Lezione di Farmacologia (sem1) del 3/10/2012 (1)

LEZIONE DI FARMACOLOGIA 03.10.2012 – PROF. FUMAGALLI

SBOBINATORE: Roberta Poletti

REVISORE: Michela Dalla Valle

Le slide a cui si fa riferimento fanno parte della lezione 1 - Farmacodinamica

INTRODUZIONE

(Il professore inizia con una lunga premessa riguardo all'importanza dello studio della farmacologia, sia per i medici che per i chirurghi)

Somministrare una terapia ad un paziente non significa semplicemente consegnare una scatola di farmaci da prendere, ma bisogna sapere che si sta intervenendo su di una persona con qualcosa che con la persona non ha nulla a che fare, cioè una sostanza chimica. Quindi è importante non solo sapere cosa bisogna somministrare, ma anche capire se il farmaco che si è scelto sta funzionando o meno.

Facendo una terapia si fa una "sperimentazione": il paziente è il nostro "animale da esperimento", cha va guardato, osservato e seguito e per fare questo bisogna saper in partenza cosa il farmaco fa, così ci si può aspettare, cosa deve succedere nell'individuo in risposta ad esso.

Il più delle volte, quando si sbaglia a dare un farmaco, si è in realtà sbagliato a fare la diagnosi: l'esito positivo del trattamento è la prova che l'iter diagnostico, l'anamnesi, lo studio del paziente e l'inquadramento patologico sono corretti.

Lo studio della farmacologia e l'utilizzo del farmaco vi seguirà in tutta la vostra carriera (un po' meno per i chirurghi che fanno un utilizzo soprattutto di pratiche non farmacologiche) e avrete il tempo di abituarvi ai vecchi farmaci e di conoscere quelli nuovi. La cosa che dovete apprendere in questo corso è il fatto che dovete avere una mentalità e un approccio da medico, dovete sapere e verificare se la vostra conoscenza è corretta.

OBIETTIVI DEL CORSO (*slide 1*)

Nel corso apprenderemo i concetti di base e avrete una vita per migliorare apprendendo concetti pratici.

Il corso è tenuto da

- Guido Fumagalli, ordinario di Farmacologia e medico
- Roberto Leone, prof. associato e biologo (?)
- Enrica Fracasso, prof.ssa associata

Si parlerà dei seguenti obiettivi:

- il principale è quello di conoscere e comprendere come i farmaci producono i loro effetti interagendo con i sistemi biologici

- comprendere come il farmaco può essere utilizzato nel contesto clinico per produrre effetti terapeutici; bisogna mettere in relazione il farmaco con quello che l'uomo è in quel momento

- una parte tenuta dal prof. Leone, molto conosciuto nel campo del monitoraggio dei farmaci, avrà lo scopo di farci capire che nulla è più dinamico di un farmaco: da un momento all'altro può essere tolto dal commercio, in seguito a comunicati dell'agenzia del farmaco, perché fa male. Bisogna quindi capire cosa vuol dire "fa male", come può l'agenzia fare questo e capire che anche noi, come futuri medici, saremo coinvolti nell'attività di monitoraggio

- una grossa parte riguarderà come si studia il farmaco e cosa significa produrre un farmaco, non dal punto di vista commerciale, ma come percorso medico, che va dall'identificazione della molecola al suo utilizzo nell'uomo. E' un processo che ha tutta una serie di regole ferree, che devono essere patrimonio culturale di ogni singolo medico.

LIBRI DI TESTO (*slide 2*)

I libri di testo sono fondamentalmente due:

- il Goodmann&Gilman è la bibbia del farmacologo; fino a qualche anno fa era un libro di sola farmacologia, ma nelle ultime edizioni, cioè negli ultimi 10anni, è diventato soprattutto un libro di terapia (la visione terapeutica è qui molto accentuata). E' il libro che accompagna il medico nella sua pratica quotidiana, è nato negli anni 40, ma viene rinnovato ogni 4-5anni; è presente sia in inglese che in italiano ed è uno di quei libri che deve rimanere nella cosiddetta biblioteca medica personale

- un intermedio che è sufficientemente approfondito (seppur non con un'impostazione come il precedente) è il Katzung, che esiste sia in inglese che in italiano, edito da Piccin

ESAMI (*slide 3*)

C'è un solo esame alla fine del corso ed è orale (negli anni passati si svolgeva con diverse procedure, ma dal momento che il titolare del corso è cambiato adesso si fa così). L' esame sarà un colloquio orale di un'ora-un'ora e mezza in cui si fa tutto il programma. Il livello di conoscenza che si richiede non è marginale, è sostanziale e non bisogna assolutamente dare al professore l'idea che "ci si sta semplicemente provando"

ORGANIZZAZIONE DEL CORSO (*slide 4*)

Il corso è annuale, presente sia in questo semestre che nel prossimo. La maggior parte delle lezioni sarà svolta dal prof. Leone, soprattutto in questo semestre, e dal prof. Fumagalli, soprattutto nel prossimo semestre; la prof.ssa Fracasso svolgerà invece la parte di Tossicologia.

Il Prof. Leone ed il prof. Fumagalli andranno a svolgere quelle che classicamente nei libri di testo sono la Farmacologia generale e la Farmacologia speciale, che si va a definire meglio:

FARMACOLOGIA GENERALE

generalità sui farmaci, cosa sono, come funzionano, come producono degli effetti, quali sono le relazioni quantitative tra dose ed effetto, generazione di effetti primari e secondari. Quindi è una discussione in generale, senza prendere in considerazione un farmaco specifico.

FARMACOCINETICA

E’ una parte molto specifica, è un modo diverso di vedere il farmaco; generalmente prendo una pillola e guardo che effetto mi fa e questa è chiamata **FARMACODINAMICA**. Quando prendo una pillola per il mal di testa la sciolgo, va nello stomaco e per poter arrivare al cervello o alle meningi deve passare nel sangue, poi, sia che il mal di testa sia passato o no, il farmaco deve essere distrutto od espulso, non può cristallizzare nel corpo. Cosa il nostro corpo fa sul farmaco si chiama farmacocinetica.

E’ importante perché dà i principi di definizione operativa di come fare in modo che la terapia possa essere individuale.

Cosa significa terapia individuale? (*il prof cerca uno studente alto e robusto sui 90kg e lo confronta con una ragazza piccola e magra sui 50kg*) I nostri due studenti quando hanno mal di testa prendono entrambi una pastiglia di Moment, ma la concentrazione del farmaco difficilmente sarà la stessa in entrambi.

Se dovete curare una malattia cardiologica in un individuo di 40 anni che cammina, corre, lavora e che magari ha un broncospasmo, un’angina o un edema cardiaco collegato allo stress, probabilmente non solo la scelta del farmaco ma anche il dosaggio sarà diverso rispetto a quello di una donna di 90 anni sempre seduta sul balcone, che non fa niente tutto il giorno. Dimensione, sesso, età, stile di vita sono tutti fattori che intuitivamente dobbiamo considerare.

La **farmacocinetica** è quel tentativo che si fa di trovare le regole generali di cosa il corpo fa al farmaco, in modo da poter arrivare ad una unificazione della concentrazione. Si fa cioè in modo che la stessa concentrazione di farmaco data a me possa essere uguale a quella data alla vecchietta, come anche ad un lottatore giapponese. Cambia la dose, cambia la frequenza di somministrazione, cambiano altri parametri…

In alcuni paesi la farmacocinetica è spinta; *(il prof racconta la sua esperienza negli USA negli anni 80)* per esempio negli Stati Uniti non si prescrive una confezione, ma si prescrive un principio attivo ed un ciclo terapeutico: per es. ad un signore a cui si deve prescrivere cortisone si scrive sulla ricetta betametasone (il composto chimico), compresse da x grammi, 3 compresse al giorno per una settimana; il paziente si reca dal farmacista il quale prepara 21 compresse con x dosaggio. Il dosaggio cambia a seconda del paziente e in modo particolare in base alla sua razza (cosa subito evidente in una società multirazziale come quella statunitense). Lo studente di medicina e il medico sono stati quindi messi nelle condizioni di poter individualizzare le terapie, sia nella scelta del composto che nel suo dosaggio.

La popolazione di Verona è cambiata recentemente: non arrivano più solo pazienti da altre parti di Italia, ma anche dal nord Africa, dai Balcani, dai paesi orientali. La popolazione che accede agli ospedali ha quindi un profilo genetico molto vario. Differenze culturali e differenze razziali influiscono sulla terapia e sulla sua efficacia e bisogna tenerne conto. La farmacocinetica è uno di quelli argomenti che cerca di rendere individuale la terapia, assieme alla genetica e alla diagnosi.

LE INTERAZIONI DEI FARMACI CON I PROPRI RECETTORI (*slide 5*)

La terminologia è molto importante, è ciò che, in maniera un po' estrema, rende un medico autorevole.

RECETTORE (*slide 5*): in farmacologia è quella molecola (pezzo di DNA, proteina, lipide…) a cui il farmaco si lega. Il termine recettore, sicuramente già noto dai precedenti studi di biologia e fisiologia (es. nello studio delle sinapsi), indica quelle macromolecole con cui la cellula comunica con altre cellule o con l'ambiente esterno e produce delle risposte. Attualmente in farmacologia si utilizza una terminologia che non confonda e si parla di bersaglio e sito di legame, ma per comodità nel resto del corso si userà ancora il termine recettore (da intendere come "sito di legame del farmaco").

FARMACO (*slide 6*): è un termine spesso confuso con medicina; è qualunque molecola in grado di produrre un effetto biologico, un cambiamento biologico legato all'interazione fisica con il suo bersaglio molecolare. Usando frase latina famosa, "corpora non agunt nisi fixata*",* si può spiegare un principio di base, cioè che i farmaci non possono esplicare un effetto se non si legano ad un componente del corpo, ad una molecola.

Anche grazie ai farmaci l'età media della popolazione e la qualità di vita sono significativamente migliorate, non si muore più di polmonite grazie agli antibiotici.

(il prof apre una parentesi su evidence based medicine e composti con efficacia non provata)

Ci sono vari modi di intendere lo stato di salute e il benessere della persona. La **medicina omeopatica**, per esempio, si basa sul fatto che la pozione che guarisce contiene una concentrazione inesistente di un composto che è l'opposto di quello che dovrebbe essere: se ho un'infezione la terapia si basa sulla somministrazione di un contenuto di batterio estremamente diluito. Sono tutte pratiche che sarebbe sciocco rigettare senza sapere di cosa si tratta, ma uno deve avere dentro di sé dei principi di verifica. L'importante è che ci sia onestà nella verifica, una statistica, una constatazione da parte di centri di ricerca, studi clinici controllati che ci permettano di distinguere tra efficacia e non efficacia. Pur essendo liberi di accettare la metodologia che si vuole, è importante essere consci dentro di sé di dover offrire al paziente le migliori probabilità di successo.

Se lo studio multicentrico dice che quel determinato trattamento nel 90% dei casi produce un miglioramento, va provato. Bisogna accumulare evidenze e selezionarle con onestà (**evidence based medicine**).

La medicina è una tradizione, che si è scientifizzata a partire dagli anni 60 (prima di avere TAC e RMN, la polmonite era diagnosticata in base ai rumori). La medicina era un'arte che è evoluta in una branca scientifica pur trascinandosi dietro molte tradizioni (*seguono alcuni esempi*):

- l'acido acetilsalicilico per esempio è il principio attivo dell'aspirina, deriva dalla corteccia di salice ed era usato già dai Romani (Giulio Cesare, Ovidio…) in una miscela con feci di topo. Molta della farmacologia attuale deriva da tradizioni precedenti

- tempo fa si usavano integratori ricostituenti (miscele di vitamine) ed epatoprotettori (farmaci che servivano a proteggere il fegato dallo stress dell'epoca moderna), rimasti nei prontuari farmaceutici per oltre 30 anni ed ora tolti (non dal commercio!) perché privi di evidenze.

Attualmente nelle palestre si trovano integratori con aminoacidi ramificati, ma non c'è un singolo studio che provi che tali composti aumentano le performance e la potenza muscolare, anzi fanno solo male, perché sono un carico azotato non indifferente per il rene, tanto da aspettarsi un aumento della curva dei dializzati nei prossimi anni. Progressivamente i composti "senza evidenze" vengono sostituiti da composti "con evidenze".

La fascia C (farmaci prescrivibili ma a totale carico del paziente) comprende una grande quantità di farmaci la cui reale efficacia terapeutica è mancante. Lo stato della farmacologia è tutto da rivedere.

Concetto fondamentale nell'**interazione farmaco recettore** è che, proprio perché il farmaco non agisce se non si lega, il vero protagonista è quello a cui il farmaco si lega. Il farmaco non genera un effetto, non "inventa" nuove funzioni, ma modula una funzione preesistente. (*slide 7-8*)

Un beta bloccante rallenta la frequenza cardiaca, perché agisce sui recettori dell'adrenalina che normalmente aumentano la frequenza cardiaca. Il beta bloccante impedisce all'adrenalina di funzionare, quindi modula una funzione preesistente.

La molecola che viene legata da un farmaco, può essere legata da più farmaci diversi: il recettore per il GABA (neurotrasmettitore inibitorio) è uno dei recettori delle sinapsi di tipo inibitorio che si formano nel cervello e che quando sono stimolate riducono l'eccitabilità. Molte sostanze ipnotiche agiscono su questo sistema; il recettore infatti è target di farmaci diversi: i barbiturici e le benzodiazepine (Valium, Tavor, Librium…), che si prendono per addormentarsi e per l'ansia. Agiscono sulla stessa grande molecola, ma in punti diversi e con effetti non sempre sovrapponibili.

Un recettore/target può essere legato da farmaci diversi, ma è vero anche il contrario, cioè che la stessa molecola può riconoscere target diversi. Ad esempio il Moduretic, un blando diuretico molto utilizzato nell'ipertensione, ha più di un target: agisce su canali per i sodio non voltaggio dipendenti presenti nel rene, inibendo la perdita di potassio ed interferisce con un trasportatore idrogeno/sodio.

Quando si dà un farmaco, nel nostro modo di pensare attuale, si deve fare in modo che il farmaco riconosca un target e che questo target sia ben noto, cosicché si possa concettualizzare cosa succede. Se il farmaco è un beta bloccante lega recettori beta dell'adrenalina: questi regolano tutta una serie di funzioni, come frequenza cardiaca, forza di contrazione cardiaca, tono bronchiale (broncodilatazione), lipolisi (scioglimento delle cellule del tessuto adiposo), vasodilatazione in risposta all'adrenalina in alcuni territori (muscolatura scheletrica). Se do un beta bloccante per il trattamento del post-infarto o dell'ipertensione avrò : diminuzione di frequenza cardiaca e forza di contrazione (l'effetto che cerco), broncocostrizione, tendenza ad ingrassare, mancata vasodilatazione nella muscolatura scheletrica (altri effetti dovuti al fatto che il target è diffuso anche in altri distretti).

L'azione del farmaco è prevalente su di un certo ambito, ma sotto ci sono tutta una serie di effetti secondari non specifici, dovuti alla non selettività di legame, o che si manifestano solo in alcuni individui. Bisogna sempre aspettarsi dai farmaci tutta una serie di effetti che vanno al di là dell'effetto terapeutico atteso, degli effetti collaterali attesi come anche degli effetti inattesi.

Il paracetamolo ha un effetto collaterale grave, la distruzione del fegato (epatotossicità): quale rischio siamo disposti ad accettare prendendo una tachipirina? La tachipirina o non fa niente al fegato o lo distrugge, quindi bisogna andare a vedere con che frequenza questo accade. Ogni anno si usano diversi milioni di compresse all'anno, quindi se il rischio fosse anche solo di 1/1milione

avremmo 200-500 pazienti in lista di attesa per un trapianto di fegato all'anno (da qui si deduce che il rischio è molto più basso, è una reazione avversa molto rara!).

La medicina e la terapia sono fatte di equilibri: si dà qualcosa che modula delle funzioni, ma è pur sempre una sostanza chimica che fa quello che vuole, delle volte dannoso. L'equilibrio tra utile e dannoso, vantaggi e svantaggi, è uno dei principi della terapia.

BERSAGLI DEI FARMACI *(slide 10)*

I farmaci sono delle molecole, dal peso molecolare di 100-500 o più, che legano:

- recettori classici per neurotrasmettitori, ormoni, neuro peptidi
- enzimi (es. aspirina)
- canali ionici (es. farmaci antiaritmici)
- proteine strutturali (es. colchicina, taxolo)
- acidi nucleici (es. farmaci antitumorali)

Gli enti che autorizzano i farmaci richiedono come documentazione l'identificazione del target. Il presupposto perché ciò sia dimostrabile è che il farmaco sia una sostanza chimica perfettamente conosciuta, con una ben precisa formula. La miscela mi fa perdere il principio base della farmacologia e della terapia, cioè la conoscenza esatta di quello che sto dando.

Il 15% degli integratori venduti in società sportive olandesi (ma si può immaginare che sarà lo stesso in Italia) contiene testosterone, sono quindi degli anabolizzanti. Esiste infatti un fiore, il Tribulus terrestris, che può essere mescolato ad altre sostanze per avere un rilassamento dopo attività sportiva, che può però stimolare la produzione di testosterone. I decotti non sono rimborsati dal SSN perché non sono classificati come farmaci, perché mancano dei principi di base degli strumenti terapeutici (la conoscenza esatta della composizione molecolare).

DEFINIZIONI OPERATIVE (*slide 11*)

I farmaci sono identificati per quello che fanno e per la loro struttura chimica: i betalattamici, derivati della penicillina, sono così chiamati perché hanno un anello beta lattamico, gli steroidi hanno un struttura steroidea, le catecolamine (adrenalina, noradrenalina, dopamina) hanno un gruppo catecolico. Buona parte dei nomi generici deriva quindi dalla loro struttura chimica.

Spesso i farmaci sono definiti in base alla funzione:

- agonisti: producono lo stesso effetto del mediatore naturale; es. gli steroidi anabolizzanti sono agonisti del testosterone, il salbutamolo per l'asma è un agonista delle catecolamine sul recettore beta2

- antagonisti: bloccano l'effetto dei trasmettitori naturali,bloccano i sistemi di comunicazione tra cellule, via sinapsi o mediante il sistemi paracrino o endocrino

Quindi i termini agonista ed antagonista sono riservati a farmaci che interferiscono positivamente o negativamente nella comunicazione tra cellule.

- inibitori: bloccano il funzionamento degli enzimi; es. l'aspirina è un inibitore della COX 1 e della COX 2 (ciclossigenasi 1 e 2), dal cui blocco derivano gli effetti del farmaco

- bloccanti: agiscono sui canali ionici.

INTERAZIONE FARMACO-RECETTORE (*slide 11-12*)

Nello studio dei farmaci si ha bisogno di quantificare, di avere dei numeri. La prima cosa che si cerca di quantificare è l'interazione farmaco-recettore. L'interazione deve avere una sua definizione temporale. Il farmaco riconosce una sostanza e vi si lega, perché si ha uno scambio di legami chimici. A seconda del numero di legami chimici l'interazione sarà stabile o instabile.

I **legami chimici** possono essere

- covalenti, legami forti con cui si formano le molecole, resistenti al calore, difficili da spezzare (*registrazione disturbata*)

- ionici, in cui una carica + e una carica – si attraggono e formano un legame, più facile da rompere

- ponti idrogeno in cui uno ione idrogeno è spartito tra atomi carichi -, classicamente ossigeno e azoto; richiede la presenza di un ambiente adatto e di una distanza precisa tra due atomi

- forze di Van der Waals, che sono l'equivalente di una forza gravitaria atomica; si esercita tra coppie di atomi, su distanze ben precise. Il decadimento della forza è al cubo (? *non si capisce ndr*). Le forse sono attive su determinate distanze (*vedi slide*) e secondo accoppiamenti precisi.

Un farmaco si lega a quelle strutture che sono con esso complementari e che possono mettergli a disposizione determinati legami. Maggiore è la complementarietà, più forte è il legame, minore è la complementarietà, minore è la forza di legame.

Qual è l'implicazione se un farmaco si lega ad un recettore con più o meno legami o se si separa da esso se, per moto browniano, i pochi legami presenti si rompono? Se si vuole ridurre la frequenza cardiaca si somministra un beta bloccante. L'adrenalina mantiene una frequenza di circa 70 battiti al minuto. Il beta bloccante blocca i recettori beta, ma non tutti perché servirebbe una quantità molto grande di farmaco. La quantità somministrata è sufficiente per bloccare il 20% dei recettori, cosicché la frequenza cala di 10 battiti, arrivando a 60. Se il farmaco ha pochi legami si stacca continuamente dal suo bersaglio e in ogni momento solo il 20% dei recettori è bloccato. Se voglio bloccarne di più aumento la concentrazione del farmaco.

Se ho un farmaco diverso, che ha un'interazione prolungata avrò un effetto prolungato, con un numero maggiore di recettori bloccati. Quindi il tipo di legame, debole o forte, influenza la persistenza del legame e quindi l'entità dell'effetto. A seconda della struttura chimica del farmaco posso avere legami diversi; posso avere farmaci molto simili fra loro, ma con qualche modifica che altera sensibilmente i legami messi a disposizione; mi posso ritrovare con due farmaci identici, solo che uno "lega tanto" e uno "lega poco": quello che lega tanto va usato in quantità inferiore, quello che lega poco in quantità maggiori.

Lezione di Farmacologia (sem1) del 24/10/2012 (1)

Farmacologia 24 ottobre 2012

Prof: Fumagalli

Sbobinatore: Siviero Valentina

Revisore: Graizzaro Alberto

[ndr: la parte iniziale della registrazione è terribile, questo è quello che ho estrapolato, in corsivo ciò che ho aggiunto]

L' attività del farmaco è legata all'interazione delle sostanze esterne con recettori presenti nelle cellule.

Il concetto base è che un farmaco non è una pozione magica, un farmaco produce degli effetti a seguito dell'interazione *con il suo recettore*; questa interazione potrebbe essere razionalizzata in *base alle quantità*, per sapere come si svelano gli effetti *bisogna fare una* valutazione quantitativa, cogliere gli effetti quantitativi dell'attività *del farmaco.*

Parlando di interazione farmaco recettore, voi ricordate il legame chimico, quando due sostanze interagiscono tra di loro l'effetto è la <u>formazione di un complesso</u>, questo sarà dipendente da quanto interattore o farmaco persiste nell'ambiente, da quanto farmaco c'è e da quanto stabile è l'interazione farmaco recettore. Ci aggiungerei anche da quanto facile è interrompere questa interazione perché immaginate che queste interazioni *siano casuali* il che significa che tutto avviene senza nessun obiettivo, senza scopo, è abbastanza intuitivo che la formazione di questo complesso dipenda da quanta area io ho, quanto farmaco io ho. <u>Più ne ho, più è probabile che casualmente i due si incontrino e formino il complesso.</u>

L'altra cosa che è importante è quanto è facile formare il complesso, perché se questi due hanno difficoltà ad interagire (per esempio perché la forma del recettore è molto strana e il farmaco fa difficoltà a penetrare) la velocità di associazione decade. Allo stesso tempo se poi i due si sono incontrati e rimangono attaccati a lungo perché ad esempio mettono a disposizione fra di loro molti legami questo complesso dura più a lungo e cambierà la sua costante di dissociazione.

<u>Questa premessa è per dire che la probabilità di formazione dipende dalle reciproche concentrazioni e dalla constante di dissociazione</u>, questo complesso si dissocia quindi è in equilibrio. In termini concettuali la singola molecola è legata un millisecondo, un secondo, comunque molto poco tempo ma nel complesso a noi interessa sapere quanto.

Quindi diciamo che c'è una velocità di associazione e una velocità di dissociazione, queste due velocità sono in equilibrio, **si equilibrano le due velocità in funzione delle reciproche concentrazioni**, sia del target che del farmaco che del complesso. Questa coppia di costanti di velocità è tradotta in una costante,

slide

se noi pensiamo al 50% di target legato dal farmaco, 50% libero non legato dal farmaco, recettore libero e legato sono in numero uguale, nell'equazione rimane solo f cioè la concentrazione del farmaco, questa <u>kd in fin dei conti significa la concentrazione del farmaco capace di legare il 50% di target presente nel tessuto</u>.

Questa viene espressa indirettamente come il negativo del logaritmo, quindi se la kd è 9 significa che basta 10 alla meno 9 molare di concentrazione di farmaco per occupare ogni singolo momento circa la metà dei recettori.

Siccome i farmaci si legano al recettore in funzione ai legami chimici che possono mettere a disposizione per il recettore, per fare un associazione o per inibire una dissociazione è evidente che un farmaco può avere una kd e un farmaco a cui magari è stato tolto un ossidrile avrà una kd diversa per l'affinità, questa kd è una costante di dissociazione, più alto è il numero maggiore è la **potenza** di un farmaco, relazione diretta tra affinità e potenza

Un farmaco potente vuol dire che è un farmaco di cui basta avere una concentrazione molto bassa per legare il 50% dei recettori, un farmaco invece poco affine o poco potente vuol dire che ce ne vuole di più. Affinità di 3 concentrazione 10^{-3} cioè milli molare, affinità di 6 concentrazione di 10^{-6} cioè micro molare, un farmaco leggermente modificato può diventare quindi più potente

Il concetto potente identifica esclusivamente la capacità di legare, mi dice la concentrazione di farmaco che in grado di legare il 50% dei recettori, significa anche che un farmaco con affinità 9 e uno con affinità 5 hanno diversa potenza, ma se uso quello con affinità 5 in quantità 10000 volte superiori ottengo il medesimo effetto perché la quantità di legame è uguale<u>**, il termine potenza si riferisce esclusivamente alla capacità di legame**</u>. Ad esempio se si dice "è uscito un nuovo antibiotico più potente" significa esclusivamente che ne servirà di meno ma lo spetto d'azione di un target che identifica l'antibiotico rimarrà lo stesso, esattamente identico agli altri. il discorso fatto vale per moltissimi farmaci.

Per esempio la famosa "pillola" all'inizio dava problemi molto forti, soprattutto dati dall'utilizzo di estroprogestinici a bassa affinità, il che costringeva, per inibire l'asse ipotalamico-ovarico, ad usare dosi pesanti, che avevano anche effetti collaterali pesanti. I nuovi estro progestinici hanno affinità (soprattutto per quanto riguarda il progesterone) molto alte quindi sono molto potenti, il che consente di usare dosaggi così bassi che per fortuna generano pochi effetti collaterali.

Quindi il termine potenza non ha niente a che fare con l'efficacia, cambia la quantità che deve essere somministrata, per alcune cose è importante per altre è marginale, per esempio i vecchi farmaci per inibire la sintesi del colesterolo erano resine che captavano il colesterolo presente nel cibo, erano melasse sgradevoli dalla puzza di pesce marcio e obiettivamente era difficile avere la compliance dal paziente. L'avere cambiato la melassa in pillole che sembrano caramelle, inodori tra l'altro, ha cambiato l'utilizzo di questi farmaci.

Anche la dimensione aiuta, dite al paziente di prendere una compressa "grossa così" 5 volte al giorno o dite di prendere una pillolina per una volta al giorno, magari la metà dei pazienti ha anche difficoltà a deglutire, allora è chiaro che non ti segue *nel primo caso*.

Il termine potenza quindi non significa che è migliore del vecchio farmaco, significa solo che si lega a concentrazioni più basse.

Un altro concetto che dobbiamo sviluppare bene è quello di **competizione** tra i farmaci che è da sviluppare bene in termini di <u>competizione che ha il **farmaco** che modula una funzione naturale con</u>

la **sostanzaendogena** che modula quella funzione naturale. Se in ipertensione uso un farmaco chiamato beta bloccante che è necessario per bloccare gli effetti dell'adrenalina, la competizione è tra il farmaco e l'adrenalina, è difficile che io stia somministrando contemporaneamente due farmaci, uno agonista e l'altro antagonista. Il concetto è quello che si compete tra sostanze.

Ci sono dati, modelli stocastici, modelli chimici e via dicendo. Ho immaginato una storiella banale è utile per capirci rapidamente:

"Siete dentro a quest'aula completamente buia, molto più grande, dentro alla sala ci sono 100 pulsanti con degli interruttori collegati a delle lampadine che sono fuori e che quindi non potete vedere. Quelli che sono fuori in strada guardano e vedono se si accende la lampadina. Quando si accende la lampadina siete al buio non sapete cosa fare, continuate a girare al buio, ogni tanto andate a sbattere contro qualcun altro di voi, ogni tanto premete il pulsante ma non potete rimanere fermi continuate a muovervi. Io che sono fuori cosa è che vedo? Una lampadina che si accende e una che si spegne, poi un'altra, quante se ne accendono? Faccio una foto e conto quante se ne sono accese in quel momento. Dalla foto vedo che gli studenti sono stati capaci di accendere 29 lampadine, alla foto successiva sono 28, poi 32 quindi media 30. In media voi accendete 30 lampadine, che non sono sempre le stesse ovviamente.

Io ne voglio accese 50, cosa posso fare per aumentare la probabilità che siano 50 quelle accese? Un'ipotesi è che mando altri studenti, in farmacologia significa che aumento la concentrazione del farmaco, aumento la concentrazione degli studenti, aumento la probabilità che i pulsanti vengano schiacciati e l'aumento fintanto che non arrivo a 50. La concentrazione degli studenti nella tal stanza sarà la mia affinità, cioè quella che mi procura 50 lampadine accese in media in continuazione nella tal stanza."

[ndr: qua il fuma rimarca nuovamente il concetto che aumentando la concentrazione degli studenti aumenta il numero di lampadine accese, tornando alla realtà….]

Aumentando la concentrazione del farmaco, o la dose considerata a volume costante, aumenterà il numero di recettori legati.

"seconda ipotesi: al posto di aumentare il numero degli studenti io vi fornisco di guanti gommati, se finite contro il pulsante poi non vi staccate più all'istante ci rimanete un po' e poi vi staccate, questo guanto gommato prolunga il tempo di permanenza, io cosa vedo da fuori? Quando faccio la foto è più probabile che io veda più lampadine accese perché queste rimangono accese più a lungo, posso raggiungere così lo stesso effetto di avere 50 lampadine accese senza aumentare il numero di studenti"

Quindi modifico un farmaco e modifico l'affinità.

Il farmaco è lo stesso, ma ci ho messo un gruppo ossidrilico che fa aumentare l'affinità, così ad esempio la noradrenalina diventa adrenalina.

"Questa è la base, quindi introduciamo il concetto di competizione: più semplice è pensare che io introduco nella stanza qualcosa che ostacola il vostro raggiungimento del pulsante, vi ricordo che vi state muovendo a caso e a caso dovete trovare il pulsante, nel momento che vi avvicinate al pulsante c'è qualcos'altro che si è messo in mezzo, voi non riuscite a interagire, da fuori vedo che non si accendono più 50 lampadine. Posso tornare a 50? Mi basta aumentare la vostra probabilità di toccare il pulsante aumentando il numero di studenti, l'ostacolo è quindi **sormontabile**."

il fatto che ci sia un ostacolo causa un'apparente riduzione di affinità, il farmaco che aveva questo determinato tipo di affinità, in presenza di un competitore sposta la sua affinità, diventa meno capace di produrre lo stesso effetto, ma per produrlo posso *aumentare la dose di farmaco*. Se io posso recuperare la stessa quantità di legame aumentando la dose sta a significare che sia il farmaco che il competitore interagiscono in modo reversibile perché entrambi si attaccano e si staccano e a quel punto funziona chi è di più, se voglio modificare il risultato modifico uno dei due.

Questo grafico rappresenta un legame competitivo.

Posso però avere a che fare con ostacoli che si legano in modo irreversibile, la lampadina non potete più accenderla! Quindi non si parla più di competizione, il farmaco si dice non competitivo.

Penso che intuiate che la maggior parte dei farmaci utilizzati a scopo medico hanno un'azione reversibile, perché così si staccano. Nel momento in cui deve finire la terapia io la finisco, se il legame è irreversibile il farmaco rimane lì fintanto che l'individuo o la cellula o la proteina non muoiono.

Ad esempio farmaci anticolinesterasici hanno azione irreversibile. La colinesterasi distrugge l'acetilcolina alla giunzione sinaptica e per questo l'evento sinaptico dura pochissimo. Questi farmaci sono degli *anticrittogamici*, chiamati anche gas nervini e usati anche in guerra ma principalmente utilizzati in agricoltura per ammazzare gli insetti, il problema è che molte volte il contadino butta l'insetticida nel pozzo, da qui finisce nell'acqua che il contadino beve e si intossica. Il numero di intossicati da *anticrittogamici* è enorme, una delle maggiori cause di decessi o di interventi in pronto soccorso per cause di avvelenamento. A questi individui non funziona più la giunzione neuromuscolare, si paralizzano, smettono di respirare e muoiono. Per salvarli bisogna prenderli e attaccarli a una macchina respiratoria perché per il resto non c'è più niente da fare, l'individuo è paralizzato per di più ha una serie di problemi legati al parasimpatico, ma il muscolo è più importante e non funziona più. Bisogna aspettare che il muscolo fabbrichi nuova colinesterasi e che questa in assenza del farmaco restituisca la funzione, ci può mettere anche dei giorni.

Vi sono anche casi più banali di legame irreversibile di cui non ci accorgiamo. L'Aspirina si lega in modo irreversibile al suo target, questo è un enzima che si chiama cicloossigenasi, però ha una particolarità: è una proteina che quando mi va bene dura mezz'ora ma generalmente dura 30 secondi. La vita della cicloossigenasi nelle cellule attive dura 30 secondi, si chiama enzima suicida, nel giro di trenta secondi si inattiva e poi viene prodotta nuova in continuazione. Noi prendiamo l'Aspirina che si lega in modo irreversibile a questo enzima e lo blocca per la vita, cioè per la vita della proteina che dura 30 secondi. L'effetto dell'aspirina è dipendente da quanto a lungo dura la sua concentrazione perché poi l'enzima viene prodotto di nuovo.

[ndr: di nuovo l'esempio dei pulsanti, l'ostacolo si lega ma il pulsante viene cambiato in continuazione, quindi lo studente può continuare ad agire su nuovi pulsanti]

Abbiamo parlato di legame, stiamo vincolando l'idea di legame anche un po' all'effetto perché *ricordate* come misuriamo il legame, il pulsante provoca l'accendimento della luce. Nell'esempio non vado a misurare fisicamente il vostro legame al pulsante. Posso anche andare a misurare fisicamente però è più semplice e in fin dei conti banale il fatto che voglio misurare proprio l'effetto, io devo curare il mio paziente. Culturalmente ci sono una serie di motivi per sapere quanto, come e perché si lega, questo mi consente di prevedere l'azione, ma il mio target principale

è l’effetto. Io voglio vedere se e quanto genera l’effetto. Bisogna comunque tenere conto che l’effetto parte dal legame, per questo abbiamo fatto l’introduzione sul legame.

Adesso focalizziamoci un attimo sull’effetto, che significa **azione biologica**. L’azione biologica per definizione stessa del farmaco in un modo o nell’altro dipende direttamente dal legame con il farmaco però c’è un problema: pensiamo a una situazione diversa.

“due macchine ferme ad un tamponamento. Effetto: quale guardiamo? Qual è quello che più mi interessa? Può essere l’ammaccatura della macchina o di quella che tampona, può essere il colpo di frusta su chi guidava o può essere l’effetto <quanti giorni me ne sto a casa> o quanto devo pagare l’assicurazione per il danno procurato alla macchina o all’individuo.”

Quindi quando parliamo di effetto abbiamo il problema del definire quale effetto dobbiamo guardare. Questo è un punto fondamentale perché nel momento in cui voi fate una terapia, date un farmaco, voi dovete decidere quale effetto dovete guardare.

Se qualcuno ha visto in corsia un pupetto con la febbre? Con un po’ di tachipirina gli passa tutto, tranne il raffreddore. Quindi volete che al bambino passi la febbre o che respiri meglio o che gli passi l’infezione? Voi dovete intervenire per un obiettivo, far passare la febbre è diverso da far passare l’infezione. Nel definire la vostra operatività voi dovete <u>obiettivizzare, definire quali sono gli obiettivi da raggiungere</u>. Questo è soprattutto importante in quelle patologie in cui il sintomo è sfuggente, non sicuro. Pensate all’epilessia, il sintomo è l’attacco epilettico mentre la funzione del farmaco è di non far venire un attacco epilettico. Come faccio a misurare l’efficacia del farmaco se il suo effetto non lo vedo? Diventa efficace proprio quando non vedo l’effetto, devo identificare un altro effetto che so essere correlato all’altro, il lavoro di decidere l’effetto da seguire è il lavoro medico per eccellenza. Il lavoro spesso non è compreso dal paziente che dice: “sto così bene e mi tocca continuare a prendere questi antibiotici”. Il paziente non sa che se non fa una terapia prolungata, non fa una profilassi adeguata, se la prendi per un giorno hai selezionato tutti quei batteri resistenti che non sono morti dopo un giorno.

slide

E’ importante quindi che ci sia un obiettivo ed è imporrante rendersi conto che <u>con lo stesso legame io ho curve dose risposta diverse a seconda dell’effetto che sto guardando</u>, in questo caso io sto guardando la paralisi dovuta a un antagonista competitivo della giunzione neuromuscolare. Questa è la curva di legame e questa la curva di concentrazione, questa la curva di rilascio. Significa fondamentalmente che le tre curve sono dissociate, non solo possono essere spostate perché io vedo un effetto quando il legame non c’è ancora, ma <u>possono esserci due effetti,</u> quindi mi vedo con due curve con due pendenze diverse.

L’esempio della giunzione neuromuscolare è tipico della malattia MIASTENIA GRAVIS, che è una malattia autoimmune in cui l’individuo produce anticorpi contro il recettore dell’acetilcolina presente nella placca neuromuscolare. Questi anticorpi in un modo o nell’altro distruggono la placca riducendo il numero di recettori funzionali. L’individuo ha perso il 10% dei recettori e avrà il 10% di forza in meno? Perde il 20% e comincia ad accusare affaticabilità, perde il 30% dei recettori e comincia a sentire dei problemi, soprattutto ha gli occhi che gli vanno uno da un lato uno dall’altro. Gli dai farmaci che potenziano la funzione neuromuscolare e questo è il decorso attuale.

Prima del ‘76 questo era il decorso dei primi mesi, quando si perdevano il 50 % di recettori l’individuo cominciava ad avere problemi di resistenza allo sforzo, 60-70 % non riusciva più a

camminare, dopo di che cominciavano le difficoltà respiratorie e infine moriva perché perdeva la capacità di respirare.

Fu scoperta l'origine autoimmunitaria casualmente perché si facevano degli studi sul recettore dell'acetilcolina, si isolava la proteina e la si iniettava in conigli perché dovevano sviluppare gli anticorpi necessari per lo studio e i conigli producendo anticorpi rimanevano paralizzati. Somministrando anticolinesterasici per aumentare la potenza il coniglio era ancora vivo. Da qui la scoperta che la miastenia gravis è una malattia autoimmune, questa scoperta ha completamente cambiato la terapia. Adesso è una malattia compatibile con la vita.

Questa esperienza ci insegna che i muscoli dell'occhio sono più sensibili perché per primi soffrono della mancanza di recettori, ma ci sono altri muscoli come diaframma e muscoli intercostali a cui devi bloccare circa l'80% dei recettori prima che venga bloccata la trasmissione sinaptica.

Traduciamola in operatività: io do un farmaco per bloccare i muscoli, questo farmaco all'inizio farà andare a spasso gli occhi, mi immobilizzerà le braccia e le gambe, poi i muscoli della pancia e soltanto infine mi immobilizza i muscoli del torace. Deve fare questo ragionamento l'anestesista che deve aiutare il chirurgo ad aprire la pancia del paziente e a richiuderla, perché se voi aprite la pancia tutta la muscolatura va in contrazione dopo di che riuscire a mettere dentro gli intestini è peggio che "giocare con la saponetta dentro al bagno". Quando ci sono interventi che riguardano il cavo addominale l'anestesia è accompagnata da paralisi.

Questo identifica un concetto di base, non è che se io do un po' di farmaco genera un effetto e se ne do un po' di più ne genera un altro, questo dipende dall'organizzazione del tessuto. Do un po' di farmaco e il tessuto è sensibile, gliene do un po' di più e il tessuto risulta più sensibile. Da qui parte la classica curva, regolando questa ho una serie di recettori che devono essere bloccati prima di vedere un affetto. Fintanto che io non ho raggiunto quel livello di blocco io non riesco a vedere nessun effetto.

Ricordatevi le relazioni dose effetto possono essere CONTINUE, DISCRETE, CON UNA SOGLIA (cioè vedo un effetto dopo una determinata soglia), possono anche essere SI' O NO (do un veleno per uccidere un topo, l'effetto o c'è o non c'è quindi sì o no).

Do un farmaco per abbassare la pressione, ma per essere più specifici l'obiettivo è di abbassare la pressione di 5 mmHg, il suo obiettivo valuta l'efficacia del farmaco se l'ho abbassata di 5 non di 1, se l'ho abbassata di 1 il farmaco non è efficacie, non lo si considera neanche.

Abbiamo parlato degli studenti che accendono la lampadina e degli ostacoli che non permettono di accenderla, in condizioni fisiologiche bisogna pensare all'adrenalina che vorrebbe agire sui suoi recettori sul cuore per farlo accelerare e un farmaco che impedisce all'adrenalina di funzionare oppure a un farmaco che fa l'azione dell'adrenalina e che ci pensa lui a interagire con il recettore.

Questi due casi il farmaco che fa la stessa cosa del neurotrasmettitore o dell'ormone ed è la stessa cosa che succede nell'ambiente, si chiama **agonista**, il farmaco che invece impedisce la realizzazione della comunicazione tra le cellule si chiama **antagonista**.

L'antagonista è un farmaco che generalmente impedisce all'adrenalina, all'ormone, al neurotrasmettitore endogeno di funzionare, di per se non ha azione è solo un bloccante. Il termine agonista e antagonista talvolta vengono confusi .

Sapete che differenze ci sono tra parasimpatico e ortosimpatico? Hanno azioni contrarie sul cuore. L'adrenalina fa una cosa il parasimpatico fa l'opposto, se io voglio abbassare la frequenza del cuore i farmaci più utili che ho sono dei farmaci che chiamo beta bloccanti che sono antagonisti competitivi dell'adrenalina per recettori che l'adrenalina possiede sul cuore che sono di tipo beta. Se rallento viene fuori bradicardia, non perché il beta bloccante rallenta il cuore ma perché non c'è l'adrenalina allora il parasimpatico pensa ad abbassare la frequenza, il betabloccante di per se non fa niente. Se uno ha la frequenza di 60 e prende un beta bloccante per bene che gli vada la frequenza gli va a 59, se lo stesso individuo dieci anni dopo ha la frequenza di 90 a riposo e prende il beta bloccante la sua frequenza va a 70. Il beta bloccante funziona nel limitare l'attività dell'adrenalina, ma non è lui che rallenta il cuore, il rallentamento è prodotto dall'antagonismo funzionale.

L'efficacia dei farmaci

I farmaci sullo stesso recettore possono agire con affinità diversa e provocare effetti diversi agonista e antagonista

Slide

Se il sito attivo è occupato il farmaco è agonista, se non è occupato è antagonista. Posso individuare nel disegno il farmaco a più alta affinità, dipende dal numero di legami che mettono a disposizione per il recettore.

Queste altre sono delle curve che vi mostrano cosa vi ho detto prima.

Un altro concetto è il cosiddetto **agonista parziale.**

Se non c'è l'adrenalina posso dare un farmaco simile all'adrenalina che produce gli stessi effetti. Questo è il caso ad esempio dell'asma, voi sapete che l'asma è una sindrome da broncocostrizione a causa classica di tipo allergico, i bronchi vanno in costrizione e il paziente ha difficoltà ad espirare. Auscultando si sentono dei fischi in espirazione, il bambino piccolo muove di colpo l'addome perché recluta tutti i muscoli espiratori per buttare fuori l'aria. L'adrenalina ha anche la funzione di stimolare la broncodilatazione, ci sono dei recettori nei bronchi per l'adrenalina, si chiamano beta 2 perché sono un po' diversi da quelli del cuore. Io posso dare delle sostanze che somigliano all'adrenalina che vanno su questi recettori beta 2 che stimolano i bronchi a broncodilatarsi e questo è il caso del Ventolin.

Questa è attivazione, è un agonista, si sostituisce o se preferite si somma all'adrenalina perché anche l'adrenalina partecipa all'azione di broncodilatazione e questo è l'agonismo. Esistono però farmaci che sono agonisti nel senso che quando si legano al recettore lo stimolano quanto basta a far emergere un po' di effetto ma non sono così bravi a modificarne la forma tale che possa produrne tutto il suo effetto.

"La vite e la chiave inglese se sono coincidenti si avvitano e svitano bene, l'effetto svitare è più semplice, non se la chiave non ha forma o dimensioni giuste. Noi usiamo una chiave giusta che non funziona tanto bene e nel frattempo impediamo all'idraulico di usare la chiave giusta. Noi siamo agonisti ma parziali, per di più siamo antagonisti perché stiamo impedendo a chi fa la vera azione di fare da lui."

Quindi l'agonista parziale è un agonista che ha un po' di attività, ma che non è sufficiente per produrre il 100% di effetto dell'agonista, allo stesso tempo impedisce all'agonista di funzionare.

Pensate a tutte quelle malattie alcune tipiche del sistema cardiovascolare in cui il problema è che, per esempio, il tono vascolare deve essere mantenuto altrimenti il paziente collassa, ma non troppo su perché quando viene fuori una valangata di neurotrasmettitore provoca una chiusura delle resistenze periferiche e un'ipertensione.

Per esempio tumori che secernono adrenalina, dopo un po' uno schiatta, gli viene l'ictus o l'infarto con queste malattie; cosa gli dai? Se gli dai solo il bloccante rischi di bloccare totalmente il controllo adrenergico e a questo punto o attua i sistemi per controllare o non riesce più a fare niente. In queste situazioni sono utili gli agonisti parziali. Il farmaco agisce un pochettino e occupa il recettore impedendo l'ondata patologica di adrenalina che dovrebbe colpire il cuore.

I farmaci agonisti parziali stanno diventando sempre più abbordabili. Ci sono anche farmaci antagonisti parziali, farmaci che bloccano ma un pizzico attivano. Il beta bloccante blocca, quindi rallenta il cuore, impedisce l'infarto, impedisce il rialzo di pressione, ma se mi blocca l'adrenalina mi blocca anche i bronchi e induce broncocostrizione. Se invece di bloccarlo lo attiva anche un po', il cuore sente molto il blocco e sui bronchi non sento il blocco. Questi farmaci cominciano ad essere sempre più usati soprattutto in psicofarmacologia.

Vi ricordo quindi che dei farmaci dovete ricordare le interazioni tra ligando ed effetto, la potenza significa affinità, l'efficacia deve essere stabilita in base all'obiettivo, in genere si parla di efficacia massima.

La pendenza mi dice quanto da nulla a massimo di effetto si ha ed è un indice della maneggevolezza del farmaco perché ad esempio se ho un farmaco che uso per rallentare il cuore, una pillola me la rallenta di 10 battiti e se ne do 2 me la rallenta di 60 è difficile da dosare. Poi ci sono varie azioni biologiche.

Quindi questa è la terminologia critica: potenza, efficacia, pendenza, specificità e finestra e indice terapeutico.

Vi ho detto rima quello che mi serve curando il paziente è sapere se il nostro intervento è efficacie, generalmente ci poniamo degli obiettivi facilmente misurabili, la febbre è andata via o no? In pediatria do la tachipirina e c'è quello che guarisce subito, quello a cui do un cucchiaino e va bene, altri a cui ne devo dare due o tre, quantità diverse.

[ndr. Si può fare lo stesso discorso con la resistenza all'alcool degli studenti dell'Università di Verona rispetto agli studenti Giapponesi]

slide

La maggior parte dei dati che vengono distribuiti quando si riferiscono a effetti su pazienti, su coorti di pazienti, sono rappresentati da curve. **Una curva di questo genere stabilirà che per questa dose il 50% dei pazienti trattati si è ubriacato, questo non vuol dire che la dose ubriaca a metà**. Vuol dire che la metà degli individui si è ubriacato non che se prendiamo quella dose siamo ubriachi a metà. Questo tipo di curva in cui si trova la percentuale di pazienti che rispondono è di tipo sì no. Se io vado a dire qual è la dose che mi ubriaca a metà, allora io non devo avere la % dei pazienti ma la % dell'effetto massimo, sono due cose diverse.

Questo tipo di rappresentazioni è molto utile e utilizzato per stabilire quanto posso usare un farmaco. Il professor Leone vi avrà detto che i farmaci sono descritti da due termini: il vantaggio e lo svantaggio. Qual è un farmaco utile? È quello che posso usare con dosi che mi procurano

benefici e non procurano rischi. È sempre vero questo? In questo caso io sto usando un barbiturico. I barbiturici sono quei farmaci che si prendevano una volta come sonnifero, hanno un effetto per cui sono dose dipendente, se uno esagera con la dose smette di respirare e muore per collasso cardiocircolatorio. Il suicido con barbiturici è finito quando non sono più stati usati come sonniferi, ma solo come farmaci. Sono stati sostituiti dalle benzodiazepine, valium, tavor.

Slide

Questo grafico mi dice che con una dose di 80 ï • g/g di tessuto solo l'8% dei pazienti risponde. Con la dose 100 il 50% dei pz si addormenta, con la dose 130 praticamente tutti dormono, con la dose 200 sicuramente dormono tutti. Però con la dose 200 ho un 5% dei pazienti che muore, con la dose 300 ho il 50% dei pazienti che muore. Cosa ne traggo? Posso dire che la dose 100 mi da il 50% del successo terapeutico, se la mia pillola pesa 100 il 50% di voi dorme, do due pillole probabilmente il 100% di voi dorme e nessuno è morto, con tre pillole tutti dormite il 50% di voi muoiono. Come chiamiamo questo fenomeno? **Indice terapeutico, finestra terapeutica** so che tra 100 e 200 ho un buon successo e ancora non ho un effetto tossico. Tra 100 e 300 ho un grave effetto tossico e un buon successo. Basta mettersi d'accordo sull'indice terapeutico: potrebbe essere il rapporto tra la dose che mi produce il 95% di efficacia (di pazienti che rispondono) e una certa quota di effetti tossico.

In questo caso l'effetto tossico morte per arresto respiratorio, dove si svolge questa scena però? Dove si usano i barbiturici? In sala operatoria per addormentare il paziente, ci interessa se il paziente smette di respirare se c'è la macchina ventilatoria che lo mantiene in vita? C'è l'anestesista che ci pensa a mantenerlo in respirazione. Per l'indice terapeutico, posso anche accettare la morte.

Un esempio più banale nel caso di una grave ipertensione o una grave asma. Per curare l'asma prendete il Ventolin o analoghi, effetti collaterali a dosi basse quasi nessuno. A dosi un po' più alte c'è tachicardia, se il trattamento è prolungato la tachicardia si manifesta anche con ipertensione, se durano a lungo tachicardia e ipertensione sopraggiunge l'infarto cardiaco. Al paziente che risponde subito gli è passata l'asma, ma il paziente che non risponde? Quanto me la sento di aumentare la dose? Io devo sapere qual è la finestra terapeutica del Ventolin, qual è la dose che consente di dare l'effetto? Quanto vicino sono al procurargli l'infarto? Che rischio accetto? Il rischio è dettato dal buon senso, uso la dose efficace nel 95% dei pazienti, ci sarà dentro al 95% quest'uomo. Quanto lontano sono dalla dose dell'infarto? Posso rischiare l'1%? Il 50%? Quanti infarti si possono rischiare?

Se avete avuto l'asma mi dite un numero alto perché uno con l'asma si sente morire, il paziente vi chiede dosi alte. In questo caso accetto il rischio di infarto se è il 3%. Ma se il danno di un rimedio per il mal di testa è un epatite fulminante qual è il rischio che accettate? Non è possibile 0, forse 1 su 10 milioni. L'indice terapeutico che è il rapporto tra dose tossica e dose efficacie è una questione di immaginarlo, di pensarlo, di valutarlo. Dipende da quanto volete essere certi di avere un effetto e quanto volete essere certi di non avere un altro effetto e questo dipende dalla gravità. Un farmaco per la terapia di un tumore ha un basso indice terapeutico ovviamente, perché se non lo tratti il paziente muore in un paio di mesi quindi accetti anche una tossicità elevata. Ma per un farmaco per la terapia di ipertensione non puoi accettare che una terapia che dura tutta la vita gli cali la pressione ma gli faccia venire un infarto.

L'indice terapeutico va quindi commisurato alla situazione.

Ultime due definizioni:

Iperreattività: vuol dire l'individuo che risponde a minime dosi. Il Finlandese taglia bosco si beve l'intera bottiglia di grappa è l'opposto, gli devo dare tanto farmaco per vedere l'affetto e lo chiamo iporeattivo. Se un paziente risponde con bassissime dosi è iperattivo, se risponde con alte dosi è iporeattivo. La capacità di rispondere è definita da reattività.

Ipersensibile si riferisce al processo immunitario, la macchia rossa, la reazione allergica, lo shock anafilattico, sono fenomeni di ipersensibilità.

Idiosincrasia vuol dire quando io do un farmaco che dovrebbe abbassare la febbre invece fa tutto tranne che abbassare la febbre o fa malissimo.

Un modo per ricordare che farmaco usare è il target del farmaco. Io voglio usare un beta bloccante o voglio agire sui recettori beta del cuore. Se io voglio usare un beta bloccante ho tanti farmaci, se io voglio agire sui recettori beta del cuore. Ogni farmaco ha delle peculiarità, il recettore è quello. Qual è il suo significato? Devo calare la frequenza cardiaca e ho 3 o 4 sistemi: blocco l'ortosimpatico, aumento il parasimpatico o calo qualche canale associato al ritmo. I farmaci sono tantissimi. Se voi vi abituate a ragionare in base al target del farmaco, cosa quel target fa e come funzione e come quel farmaco funziona. In questo modo agevolate il processo di assegnazione del trattamento.

In questo tipo di processo è importante partire con quei microprocessi farmacologici tramite cui comunicano tra loro le cellule. Ci sono molecole di comunicazione, molecole di ricezione e sistemi di trasduzione del segnale. Quindi per prima cosa in questo processo di apprendimento e del significato terapeutico guardiamo quali sono i sistemi che sono maggiormente implicati nella comunicazione tra cellule.

Più banale di tutti sono i recettori dei neurotrasmettitori o mediatori, recettori per "quelle cose" che permettono alle cellule di comunicare tra di loro. Questi si classificano per localizzazione: sulla superficie o dentro alla cellula, dentro al nucleo (corticosteroidi). Si classificano per la struttura che è molto associata alla modalità di funzionamento e poi si classificano in funzione dell'agonista normale. Il punto base è che recettori che hanno la stessa struttura molecolare hanno lo stesso funzionamento. Ci sono diversi tipi di recettori. Per neurotrasmettitori, recettori canali che sono fondamentalmente canali ionici che fanno passare ioni positivi o negativi che quindi influenzano il tipo di trasmissione. Tipico è il recettore dell'acetilcolina nella placca neuromuscolare o recettori sinaptici. Altri sono recettori accoppiati a proteine g che producono secondi messaggeri, recettori tirosin chinasici soprattutto per fattori di crescita.

I recettori intracellulari sono molto importanti, per gli steroidi, per la tiroxina, per la vitamina d per il retinolo, sono dentro alla cellula e c'è un motivo finalistico: il segnale che loro trasmettono produce qualcosa, modificano la trascrizione genica. La persona ipertiroidea è agitata, schizoide, con ipertensione. I recettori della tiroxina regolano la quantità di enzima che sintetizza l'adrenalina, regolano la quantità di recettori per l'adrenalina. Al contrario la persona ipotiroidea hanno pochi recettori e poca adrenalina. Gli steroidi androgeni agiscono sui recettori del testosterone, il testosterone modifica la trascrizione genica del tessuto muscolare e lo fa crescere così come fa crescere gli organi sessuali, così come nella donna gli estrogeni sono segnalatori che dicono ai nuclei delle cellule renali di trattenere acqua, perché queste cellule renali sintetizzano i canali per trattenere acqua. Sono sempre gli estrogeni che dicono alle cellule della ghiandola mammaria di proliferare, è una modifica dell'espressione genica.

Nel sistema nervoso centrale funziona con tanti neuroni che formano sinapsi che usano tanti neurotrasmettitori. Ciascun neurotrasmettitore può agire su più recettori a lui sensibili. Il recettore

per l’acetilcolina nel cervello, ma anche in periferia, può essere un recettore canale o un recettore accoppiato a g proteina. Quando parlo del recettore del gaba il recettore che mi da una risposta rapida di iperpolarizzazione o il recettore accoppiato a g proteina che mi da un altro tipo di risposta e via dicendo.

Lezione di Farmacologia (sem1) del 25/10/2012 (1)

LEZIONE DI FARMACOLOGIA DEL 25/10/12

PROF. FUMAGALLI

Sbobinatore: Annalisa Solidoro

Revisore: Selene Faustini

(le slide nominate fanno riferimento alla lezione “Signal Trasduction”)

RECETTORI CANALE

Parliamo oggi dei recettori canale, i recettori per neurotrasmettitore innanzitutto, che hanno come meccanismo di trasduzione del segnale, che arriva dall'esterno da altre cellule, la variazione di potenziale; si tratta infatti di recettori con capacità di trasporto ionico.

La caratteristica comune dei recettori canale è funzionale ma riguarda anche la localizzazione, infatti sono localizzati sulla superficie della cellula e soprattutto nella stragrande maggioranza, ma non esclusivamente, si tratta di recettori sinaptici.

Sono quindi recettori presenti soprattutto, ma non esclusivamente, nel sistema nervoso centrale dove la comunicazione fra le cellule è assicurata da una serie di neurotrasmettitori che vengono rilasciati dai bottoni pre-sinaptici e che interagiscono con i recettori post-sinaptici localizzati tipicamente su siti specifici della membrana del neurone.

(slide 5, viene mostrata una tabella qui sotto riportata)

NEUROTRASMETTITORE	RISPOSTA VELOCE	RISPOSTA LENTA
Acetilcolina	Nicotinici	Muscarinici
GABA	$GABA_A$	$GABA_B$
Glutammato	Ionotropi	Metabotropi
Serotonina	$5\text{-}HT_3$	$5\text{-}HT_{1,2,4,5}$
ATP	P_{2X}	P_{2Y}

Questi sono i maggiori neurotrasmettitori presenti nel sistema nervoso centrale, alcuni di questi sono attivi su recettori canale, inducono risposta veloce e quindi classicamente sono recettori sinaptici ma come vedete alcuni dei neurotrasmettitori sono in grado di interagire con altri recettori che sono in grado di produrre risposte più lente (vedremo questi recettori più avanti).

Quelli di cui oggi parliamo sono fondamentalmente due recettori sinaptici importanti:

- **recettore per l'acetilcolina di tipo nicotinico** (perché stimolato dalla nicotina)
- **recettore per il GABA** (recettore canale detto **$GABA_A$**)

Di questi recettori andiamo a vedere come sono organizzati dal punto di vista molecolare, come funzionano, come possiamo modularli farmacologicamente e poi andremo a vedere cosa succede in particolare quando si modulano farmacologicamente.

Dicevamo che la maggior parte dei recettori canale sono recettori sinaptici, anche se non esclusivamente, poiché questo tipo di recettori è presente anche su altre porzioni della membrana della cellula.

(slide 7, figura con neurone e particolare del bottone sinaptico di cui segue descrizione)

In questa figura è rappresentata la forma classica di un **neurone** che ha un corpo, soma, con un albero dendritico più o meno esteso e con un assone, generalmente un solo assone, che è rivestito tipicamente da guaina mielinica. La guaina mielinica è un meccanismo non solo di protezione e di isolamento elettrico ma è anche un meccanismo di regolazione della conduzione della velocità di trasmissione dell'impulso lungo l'assone.

Alla sua terminazione è generalmente ramificato e termina con dei piccoli bottoni che hanno la caratteristica di avere un accumulo di vescicole pre-sinaptiche dentro le quali si accumula il, o i neurotrasmettitori; queste vescicole vengono rilasciate quando la membrana pre-sinaptica viene depolarizzata da un impulso, questo segnala l'aumento della concentrazione del calcio intracellulare, e l'aumento della concentrazione del calcio intracellulare è il meccanismo molecolare ionico attraverso cui serie di proteine si adattano e provocano la fusione della vescicola con la membrana e di conseguenza il rilascio di neurotrasmettitore nello spazio sinaptico.

Nello spazio sinaptico il neurotrasmettitore classicamente trova subito il recettore post-sinaptico, il quale produce segnale, a seconda della sua caratteristica, con una depolarizzazione o con una iperpolarizzazione (come vedremo fra poco).

Quello che mi preme ricordarvi è che questo segnale è molto rapido, 2 millisecondi è tipicamente il tempo di attesa tra la depolarizzazione pre e la risposta post. *(Il professore rimarca il fatto che siano solo 2 millisecondi, NdR).*

E' un segnale che oltre ad essere rapido è anche molto breve, cioè deve essere un segnale “*tac e poi stop”,* non può essere un segnale rapido che poi persiste per molto tempo.

Quindi devono esistere all'interno di questa chiave sinaptica dei meccanismi che spengono il segnale; questi meccanismi sono diversi e siccome sono target farmacologici importanti è bene tornare con una lezione specifica, adesso mi interessa che teniate presente questo: quando il neurotrasmettitore è l'acetilcolina, il meccanismo principale di spegnimento del segnale è la distruzione dell'acetilcolina ad opera dell'enzima **acetilcolina esterasi,** questo è un enzima presente in gran quantità, velocissimo nella sua azione catabolica.

Quindi l'acetilcolina viene liberata ed immediatamente distrutta, riesce ad agire per pochi millesimi di secondo.

Questo appena descritto è il meccanismo attraverso cui lavora la **sinapsi colinergica**, si tratta di una sinapsi rapida che produce un segnale potente (una depolarizzazione post-sinaptica) ma brevissimo.

Altri neurotrasmettitori adottano strategie diverse.

Nella stragrande maggioranza dei casi la strategia maggiore per spegnere il segnale sinaptico è la **ricaptazione**: il neurotrasmettitore viene buttato fuori e poi viene risucchiato dentro o dallo stesso terminale che l'ha buttato fuori, o dalle cellule gliali che stanno là vicino.

Nonostante questo possa sembrare più macchinoso come meccanismo è altrettanto veloce.

Ci sono delle sinapsi che possono essere aggredite farmacologicamente su questo meccanismo, per esempio le sinapsi che lavorano con adrenalina (soprattutto quelle che lavorano con dopamina e serotonina) sono target di farmaci importanti.

Per la serotonina sono soprattutto gli **antidepressivi** (sono farmaci SSRI: selective serotonin reuptake inhibitors, inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina).

La **serotonina** è un neurotrasmettitore di alcune aree importanti. Quando i livelli di trasmissione di queste sinapsi sono scarsi si associa una sindrome depressiva; il meccanismo antidepressivo di questi farmaci apparentemente, anche se non è ancora ben chiaro come alla fine si realizzi, è legato al blocco della ricaptazione della serotonina, in modo che queste sinapsi possano funzionare di più (è un po' come alzare il volume di un segnale)

Adrenalina e soprattutto dopamina invece sono inibite nel reuptake da altri farmaci che classicamente non sono terapeutici, un prototipo è la **cocaina**. Il meccanismo d' azione della cocaina è legato al blocco del reuptake di adrenalina e dopamina. Vedremo come questo meccanismo giustifica tutti gli effetti, non solo voluttuari ma anche comportamentali e somatici dell'assunzione della cocaina (Ecstasy e cocaina hanno lo stesso meccanismo d'azione).

Questo era un inquadramento su come possiamo lavorare su una sinapsi; vedremo molti farmaci nel sistema nervoso centrale agire attraverso questi meccanismi.

Adesso ci focalizziamo sulla generazione del segnale post-sinaptico, quindi sui **recettori post-sinaptici** che tipicamente sono recettori canale.

Si tratta di grosse proteine che hanno la funzione di far passare gli ioni da una parte all'altra della membrana, quindi devono essere transmembrana: gli ioni non possono passare attraverso la membrana perché sono idrofili e carichi elettricamente, la membrana è un doppio strato lipidico (quindi ioni e membrana non hanno nulla a che fare).

Gli ioni, cariche positive o negative, possono attraversare la membrana solo se hanno un canale, in questo caso si muovono secondo il loro gradiente chimico ed elettrico, oppure vengono trasportati da trasportatori o da pompe.

Vedremo soprattutto nella lezione sui diuretici come lavorando sulle pompe si può modificare l'equilibrio elettrolitico dei meccanismi di trasporto ionico e quindi della produzione di urina.

I recettori canale sono grosse proteine transmembrana, hanno questa forma ad imbuto, al loro interno profondamente si trova un canale che permette agli ioni di passare attraverso la membrana. Il canale è tipicamente chiuso e si apre quando il recettore è legato dal neurotrasmettitore; quindi il messaggero buttato fuori dalla cellula pre-sinaptica viene tradotto dal recettore in una apertura di canale.

Questi recettori, come abbiamo detto più volte, sono grosse proteine, in natura è difficile trovare grosse proteine, generalmente le proteine hanno un peso compreso tra i 30.000 ed i 70.000 Dalton (30-70 kDalton);

le proteine grosse non sono facili da sintetizzare (più è grossa la proteina più è facile che venga fatta male), per cui questa proteina che pesa circa 500 kDalton (o 300 dipende dalla specie) è in realtà composta da 5 subunità: 5 proteine con il peso compreso tra i 50-80 kDalton che si assemblano a formare un unica grande proteina (in questo caso parliamo del recettore dell'acetilcolina).

IL RECETTORE PER L'ACETILCOLINA AchR

Ciascuna delle 5 subunità ha delle caratteristiche ripetute, classicamente sono proteine transmembrana che passano più volte la membrana cellulare, si agganciano in un modo fortemente specifico fra loro (non si mescolano, hanno organizzazione molecolare ben precisa) e l' apertura del canale (che è stata molto ben studiata in particolare per il recettore nicotinico) è legata al fatto che quando il neurotrasmettitore si lega ad una subunità, questo legame induce una modificazione conformazionale che "storta" questi bastoncini *(intende le subunità del canale, NdR)* e apre il canale.

Ciò che importa capire è che si tratta di proteine complesse, assemblate, chiuse che ad un certo momento devono aprirsi per far passare gli ioni.

L'organizzazione di base: proteine multimeriche, fatte da più subunità diverse fra di loro; ciascuna subunità può avere la caratteristica di essere transmembrana, di assemblare in modo specifico.

Il segnale viene tradotto in una modificazione conformazionale del complesso proteico che permette l'apertura del canale.

(slide 10)

Non tutti i recettori canale sono identici, anzi sono sicuramente diversi per sequenza ma anche un po' per composizione: notate che il recettore per **l'acetilcolina**, il recettore per il **$GABA_A$** ed il recettore per la **glicina** (altro neurotrasmettitore proprio del sistema nervoso centrale) sono pentamerici;

mentre il recettore per il **glutammato**, che il più importante fra i neurotrasmettitori eccitatori del sistema nervoso centrale ha la forma delle subunità leggermente diversa, soprattutto è tetramerico così come il recettore per i **nucleotidi ciclici** è tetramerico ma con subunità ancora più complesse; poi c'è il recettore per l'**ATP** che è dimerico ed ha subunità estremamente semplici.

C' è quindi una strategia comune che è quella di avere un canale, di usare multiproteine (non una sola ma più proteine per formare una grossa proteina canale), e di aprire il canale a comando quando l'agonista si lega al sito di legame (altrimenti il canale è chiuso).

Cosa passa quando il canale si apre? Il canale è solo un buco?

No, si tratta di un buco selettivo fondamentalmente per la specie ionica, in altre parole possiamo fare la distinzione fra:

- recettori canale cationici, che fanno passare cariche positive
- recettori canale anionici, che fanno passare cariche negative.

Andando per esclusione fra gli anionici troviamo soltanto i recettori per il **GABA** e la **glicina**,

fra i cationici **tutti gli altri**.

(slide 12)

Cosa significa essere un canale anionico o cationico?

Guardando questi ingrandimenti si nota un bottone sinaptico, il neurotrasmettitore è contenuto nelle vescicole, quando il terminale sinaptico viene depolarizzato il calcio intracellulare aumenta e questo causa la fusione della vescicola ed il rilascio del neurotrasmettitore.

I recettori post-sinaptici che si trovano di fronte vengono eccitati. Se ne eccitiamo qualcheduno possiamo registrare sulla membrana post-sinaptica, se si tratta di canali cationici, una leggera depolarizzazione che prende il nome di **EPSP Potenziale Post Sinaptico Eccitatorio**.

Se invece il neurotrasmettitore è il GABA o la glicina, questi interagiscono con i propri recettori canali anionici i quali sono permeati solo da cariche negative, e l'ingresso di cariche negative rende la cellula ancora più elettronegativa, questo viene detto **IPSP Potenziale Post Sinaptico Inibitorio**.

(il professore pone l'attenzione sulla parte bassa della slide dove viene raffigurato un grafico con la curva del potenziale di membrana, in particolare si sofferma sulla linea tratteggiata del livello soglia, NdR)

Il concetto di base del funzionamento della sinapsi (che possono essere paragonate a dei grilletti delle pistole) è che sono vuote fino ad un certo limite finché non si arriva ad una soglia, quando si raggiunge questa soglia parte il colpo. Nel caso specifico quello che succede è che il potenziale di membrana viene modificato a livello della sinapsi dal neurotrasmettitore, magari con una depolarizzazione come nel caso di sinapsi eccitatorie; se la somma delle depolarizzazioni data dai recettori attivati in quel momento rimane sotto una certa soglia, il segnale è come se non ci fosse stato. Se invece la somma dei recettori coinvolti permette una depolarizzazione che raggiunge il valore soglia parte la depolarizzazione.

E perché parte questa depolarizzazione? Perché intorno a queste sinapsi ci sono tantissimi canali al Sodio sensibili al voltaggio, che sono pronti a sparare quando il potenziale della cellula viene spostato verso una soglia (ogni canale ha la sua soglia, tipicamente si trova a -40 -50 mV). Quando il potenziale arriva a questo livello i canali al Sodio, che sono tanti e si trovano dappertutto, si attivano e questo genera l'esplosione del potenziale d'azione.

I neurotrasmettitori inibitori invece portano il potenziale di riposo della cellula ancora più indietro allontanandolo dalla soglia e quindi rende la cellula meno eccitabile.

Pensando ad una cellula che riceve un migliaio di impulsi contemporaneamente, da migliaia di bottoni diversi, probabilmente che arrivano da centinaia di cellule diverse; una parte di questi bottoni è eccitatoria, una parte è inibitoria, il neurone quindi è fondamentalmente una integrazione di segnali sia di eccitazione che di inibizione. La somma momentanea di questi segnali dice se il neurone verrà eccitato o non sarà eccitato, se produrrà o meno un potenziale d'azione.

I circuiti neuronali sono circuiti complessi per tanti motivi: perché sono fatti da tanti elementi e la risultante dell'azione di una singola cellula è l'integrale di migliaia di sinapsi di cui una parte è eccitatoria, una parte è inibitoria, altre sinapsi invece sono soltanto cumulatorie.

Questa integrazione, vista a livello di singola molecola, è la seguente: ogni recettore canale contribuisce all'influsso di ioni in quantità finita.

Si dice che un singolo recettore nicotinico contribuisca circa con 90 nanoAmpere di influsso di ioni e quindi è in grado di spostare la soglia di attivazione di 0,01 milliVolt, si comprende quindi che per attivare un potenziale d'azione non basta attivare solo 2-3 recettori, il segnale deve essere forte. Ricordatevi che nella giunzione neuromuscolare umana (quella che consente di alzare il braccio) ogni singola giunzione è fatta da circa 30 milioni di molecole di recettore e per poter attivare il movimento del muscolo bisogna attivare almeno il 15-20% di recettori, ciò vuol dire che bisogna attivare 150-300 mila molecole.

E' importante capire il grado di complessità del sistema, perché sembra tutto molto semplice quasi come fossimo un computer ma in realtà siamo più complessi, andando nel micro possiamo affermare che siamo numerosamente complessi; dovete cercare di fare vostro questo concetto perché vi può aiutare nel comprendere una patologia ed anche una terapia.

Perché in un individuo una patologia si manifesta in un modo e in un altro si manifesta in altro modo? C'è una serie di quadri comuni ma poi l'intensità, la manifestazione e quant'altro sono estremamente individuali. La risposta alla terapia, per quanto schematici si voglia essere, ha alla base una enorme complessità che attenua, o meglio ottunde e rende la situazione estremamente più complessa di quello che sembra, anche se poi dal punto di vista cellulare possiamo ricondurci a processi più semplici.

Siamo sempre in bilico come medici che guardano il paziente perché sappiamo che quel paziente è un numero nella massa, che alla fine si comporterà in quel modo, ma nel momento in cui lo si va ad analizzare diventa un individuo. Allora questo continuo giocare tra individuo e massa è il gioco che dobbiamo fare per avere una terapia (che è la massa) che deve essere inserita in un contesto (che è l'individuo).

Questo essere abituato a lavorare con i numeri sull'individuo è intrinseco nel mestiere del medico, quindi non deve mai sfuggire l'idea che si sta lavorando con l'individuo.

(Il professore apre una parentesi sull'importanza per il medico di trattare il paziente come un individuo e non come un numero, NdR)

Nella pratica quotidiana il paziente è un individuo ma è poi nella pratica culturale che questo non è vero, perché partendo già dalle sinapsi ci rendiamo conto che se parliamo di recettore per l'acetilcolina si intende un complesso di proteine che comprende 30 milioni di molecole che devono funzionare insieme in un determinato sito (non si tratta di 2-3 molecole, ma di 30 milioni!).

E' vero che si utilizza il termine, IL recettore per l'acetilcolina, ma sappiamo che quando si usa questo termine si intende dire 30 milioni di molecole in una sinapsi;

nel muscolo soleo per esempio ci sono poi 3 mila sinapsi con 30 milioni di molecole ciascuna, quindi si lavora sui grandi numeri concettualizzandoli.

Fatevelo proprio questo modo di pensare perché è il modo tipico e spontaneo con cui alla fine ci si viene a trovare nella pratica quotidiana, ma è anche un modo culturale di lavorare.

(slide 13)

Ritorniamo ora sulla singola molecola di recettore.

La singola molecola di recettore multimerica, nel caso del recettore nicotinico è pentamerica.

L'acetilcolina si lega su due siti di legame diversi presenti nella subunità α, il legame storce la molecola ed entra un numero finito di carica positiva. L'acetilcolina viene poi rapidamente distrutta dalla colinesterasi.

Il recettore è fatto da diverse subunità, si apre e fa passare gli ioni.

(slide 14)

Tecnica del patch-clamp

Tecnica di elettrofisiologia che produsse nel '91 il nobel a Sakmann e Neher, molto utilizzata oggi.

Con una pipetta si va sopra un pezzo di cellula, si succhia un pochettino di cellula (patch) e si va a misurare l'attività elettrica. Al di sotto del patch si mette altro elettrodo che blocca la differenza di potenziale e quindi bloccando la differenza di potenziale ciò che si vede è la corrente.

A cosa serve questa tecnica?

A studiare le proprietà elettriche di ciascun canale, o per lo meno dei canali presenti nel patch, nella pipetta che tipicamente ha il diametro di 1 micron (può essere anche più piccola).

(parte B della slide 14, primo grafico)

Ciò che si vede in questo grafico sono le registrazioni di quando il patch viene esposto all'acetilcolina, è un patch ricavato dalla cellula muscolare embrionale:

- il canale dapprima non dà segnale, è chiuso
- quando il grafico del potenziale scende vuol dire che il canale si apre ed entrano ioni
- poi il canale si richiude, il potenziale ritorna al punto di partenza, quindi vuol dire che non c'è più corrente
- il canale va incontro a successive aperture e chiusure che hanno durata diversa

Si vede che sono eventi un po' di diversi l'uno dall'altro, hanno in comune il fatto di condurre una corrente abbastanza costante che ha sempre la stessa ampiezza.

Il canale si apre di una certa larghezza, per cui c'è un certo passaggio di ioni, può rimanere aperto un attimo oppure può richiudersi, o rimanere aperto più a lungo.

Facendo una media tra quanto si apre e tra quanto a lungo rimane aperto si ottengono dei dati che dicono che quel determinato canale ha:

- <u>una conduttanza</u>, cioè una corrente (perché si è aperto in un certo modo e di un certo valore)
- <u>un tempo di apertura</u> di altro valore

(il professore dice che non gli importa sapere quali siano i valori numerici dei parametri, NdR)

Ciò che è importante sapere di un canale è quanto questo si apre e quanto a lungo rimane aperto.

(parte B della slide 14, secondo grafico)

In questo grafico si nota già ad occhio che si tratta di un canale diverso dal precedente, fa delle deflessioni molto più forti ed in linea di massima queste deflessioni durano di meno.

<u>**Il recettore per l'acetilcolina muscolare AchR**</u>

Allora entrambi sono recettori dell'acetilcolina ed entrambi si trovano nel muscolo scheletrico, solo che il primo è quello che c'è nell'<u>embrione</u> ed il secondo è quello dell'<u>adulto</u>.

Come mai due conduttanze e due tempi di apertura diversi per lo stesso recettore dell'acetilcolina?

Se ci sono delle differenze evidentemente non si tratta dello stesso recettore.

Noi lo chiamiamo recettore per l'acetilcolina nicotinico (perché attivato dalla nicotina) ma in realtà nel muscolo ci sono 2 tipi di recettore che differiscono fra loro.

Abbiamo detto che il recettore è pentamerico, costituito da:

- **2 subunità α** (alfa)
- **1 subunità β** (beta)
- **1 subunità δ** (delta)
- **1 subunità γ** (gamma) nell'embrione; nell'adulto sostituita da **subunità ε** (epsilon)

Il messaggio è che si è identificato un recettore: recettore nicotinico per l'acetilcolina (pentamero costituito da 5 subunità...)

In realtà nel muscolo ci sono 2 recettori: uno con subunità ε ed uno con subunità γ.

Il recettore per l'acetilcolina nervoso AchR nervoso

Andando nel sistema nervoso centrale, tutti quelli che fumano sapranno che soprattutto al mattino quando si fuma la prima sigaretta si vacilla un attimino, questo perché dopo un bel sonno vengono fortemente stimolati i recettori nicotinici del cervello.

Questi recettori nicotinici del cervello sono recettori canale per l'acetilcolina stimolati dalla nicotina diversi da quelli muscolari per composizione in subunità.

Anch'essi pentameri, hanno diversa sensibilità ai farmaci e hanno composizione in subunità diversa.

In particolare nel SNC troviamo:

- **pentameri fatti da 5 copie della stessa subunità α**
- **più comunemente multimerici costituiti da subunità α e β**

Esistono nel SNC **3 diverse subunità β** e **9 diverse subunità α** che possono associarsi in combinazioni specifiche per diverse zone del SNC.

Concettualmente cosa vuol dire?

L'acetilcolina è un neurotrasmettitore che attiva dei recettori canale, questi recettori sono tipici per il muscolo e per le diverse parti del cervello. Alcune parti del cervello sono ricche di recettore polimerico (fatto solo da subunità α7 o α9) altre parti del cervello invece contengono la combinazione β2α4 o β3α4 o β2α3 (combinazione più frequente).

Il punto fondamentale è le cellule di zone del cervello esprimono recettori nicotinici fatti da proteine diverse. Se vi ricordate, ciò che influenza l'interazione farmaco recettore è la superficie, gli aminoacidi che la proteina ha sui quali il recettore va a mettersi. Ora, se le subunità sono diverse, la probabilità è alta che i farmaci che agiscono su un tipo di recettore possano non agire su un altro tipo di recettore.

Quale è la prospettiva dal punto di vista medico?

La prospettiva è che se si ha un recettore nicotinico coinvolto nel Parkinson di un tipo e il recettore nicotinico coinvolto nei processi della memoria che saltano con l'Alzheimer di un altro tipo, si può alla fine riuscire ad avere dei farmaci che magari sono selettivi per la funzione che sto perdendo con l'Alzheimer, senza andare a danneggiare la funzione motoria che è persa con il Parkinson.

(Lo vedremo molto bene fra poco parlando di recettori per il GABA).

Nel SNC il sistema nicotinico è importante in diverse funzioni, soprattutto memoria ed affettività.

Il **morbo di Alzheimer** è perdita di memoria, perdita di memoria pesante, grave e diventa quasi totale (tanto che il paziente non riconosce il figlio). E' chiamato anche demenza (la persona è demente, non si ricorda più chi è, con chi sta parlando, cosa ha detto).

Gradualmente e in età anche abbastanza precoce (fenomeni cominciano a comparire ed a rendersi più manifesti già a 50 anni) alla fine l'individuo di ritrova perso totalmente portando con sé un grave problema di gestione del paziente.

Il morbo di Alzheimer ha tanti modi di essere, tante manifestazioni, tanti dati, tante cose per cui al momento è difficile capire bene perché c'è e riuscire ad impostare una terapia.

Sicuramente quello che è tipico, che è la prima manifestazione visibile nel cervello di un paziente morto con Alzheimer, manifestazione che si presenta ancor prima che il morbo sia facilmente riconoscibile, già ai livelli in cui viene definito soltanto come *Difetto cognitivo modesto*, è una drastica perdita dei neuroni colinergici. Questo dice che evidentemente sono i neuroni colinergici importanti nei processi cognitivi e nella memoria in particolare; ora che questo sia vero o meno è ancora sconosciuto ma ciò che è sicuro è che quando questi neuroni scompaiono si hanno difetti della memoria e quindi evidentemente hanno un ruolo nella memoria.

A cosa serve quindi il sistema nicotinico?

Serve probabilmente a funzioni come la memoria e l'affettività.

Ma non serve solo a questo, all'esterno del SNC il sistema nicotinico è massimamente rappresentato a livello della giunzione neuromuscolare che è quel punto del muscolo dove il nervo prende contatto con il muscolo.

(slide 17)

La giunzione neuromuscolare

Si vedono gli assoni che si ramificano e formano la sinapsi. La giunzione neuromuscolare con il nervo e tutti i “pallini” che sono le vescicole sinaptiche, si vedono i mitocondri. Si vede poi la membrana post-sinaptica muscolare che è tutto ripiegata su se stessa.

(slide 18)

Si vedono i recettori visti dall'alto con un altra tecnica. Si nota la forma ad imbuto del recettore, ed è quasi come guardare una serie di imbuti visti dall'alto. Da notare come sono stipati i recettori proprio sotto la giunzione.

L'apertura di ogni singola vescicola provoca una depolarizzazione, interviene quindi un rilascio quantale.

(slide 21-22)

La generazione del potenziale d'azione

Una singola depolarizzazione è una o due-tre vescicole che si aprono, si registra un potenziale di placca ma non c'è potenziale d'azione.

Il potenziale d'azione si registra quando l'effetto di una serie di vescicole si somma nello stesso momento con quello di altre, per cui il potenziale viene spostato verso il valore di soglia e da qui parte il potenziale d'azione.

Quindi quando la depolarizzazione indotta dai recettori post-sinaptici raggiunge il valore critico si genera il potenziale d'azione, questo corrisponde al reclutamento dei canali al Sodio.

Il muscolo scheletrico striato ha la caratteristica di avere una membrana cellulare che si introflette formando i tubuli T che prendono contatto con delle cisterne intracellulari che sono messe in registro con i fasci di miofibrille. Le cisterne hanno il significato di accumulare ioni Calcio, quando la depolarizzazione che arriva dalla sinapsi e si propaga attraverso i tubuli, entra all'interno della fibra muscolare e raggiunge il fondo dei tubuli T, questi interagiscono con le cisterne, producono un segnale che fa liberare il Calcio. Il Calcio liberato attiva la contrazione.

Ricordate bene che la contrazione, sia questa del muscolo striato o liscio, è sempre attivata dallo ione Calcio. (Vedremo più avanti che ci sono altri modi per regolare la contrazione).

Il rilascio dei neurotrasmettitori è indotto dallo ione Calcio.

La secrezione è indotta dal Calcio.

Quindi tutti questi **fenomeni** sono **Calcio-dipendenti**

- **contrazione**
- **neurotrasmissione**
- **secrezione**

Nel caso della contrazione scheletrica il Calcio non arriva da fuori ma è liberato dalle cisterne ed è poi nelle cisterne recuperato per riabbassare la concentrazione e permettere quindi il rilassamento.

Contrazione muscolare in breve:

terminale → vescicola → recettore post-sinaptico → coinvolgimento dei canali del Sodio → depolarizzazione → depolarizzazione che si porta alla membrana → membrana stimola le cisterne → le cisterne liberano il Calcio → il Calcio fa contrarre actina e miosina → le cisterne recuperano il Calcio → actina e miosina si rilassano e recuperano lo stato iniziale.

E' un susseguirsi di stimolo e contrazione – stimolo e contrazione – stimolo e contrazione - ….

Uno stimolo mi dà sempre la stessa contrazione, la stessa risposta? Assolutamente no.

La codifica dello stimolo, quello che la cellula sente con i suoi recettori non è soltanto un impulso, la cellula è in grado anche di interpretare la frequenza degli impulsi;

quindi la codifica sinaptica non è soltanto una codifica "c'è o non c'è" ma è una codifica anche di "quanto c'è" e con quanta frequenza.

Nel caso del muscolo quello che si vede subito è che se si stimola un muscolo poi questo si contrae; se si va a registrare cosa succede sulla membrana si vede che c'è una depolarizzazione ma se a questo stimolo se ne fa seguire subito un altro, si vede che lo stimolo diventa più grosso: questo è il fenomeno della **facilitazione**.

(slide 25, grafico con progressione dei cambiamenti del potenziale post-sinaptico dopo ripetute stimolazioni)

A cosa è dovuta la facilitazione?

Quando entra il Calcio le vescicole si fondono, passano 200 msec per il prossimo stimolo, nel frattempo il Calcio è ritornato giù e quando arriva il nuovo stimolo le vescicole si fondono di nuovo. Se invece di far passare 200 msec ne passano 2-10 msec il Calcio non fa in tempo a scendere, entra nuovo Calcio che va a sommarsi a quello vecchio e quindi la concentrazione di Calcio tende a salire. Se sale la concentrazione di Calcio più vescicole si fondono. Quindi è facile capire come mai all'aumentare della frequenza, se ci sono stimoli ripetuti uno dietro l'altro, si ha un reclutamento di sempre più vescicole e quindi il segnale è più forte; questo fenomeno si chiama appunto **facilitazione**.

La cellula ricevente è in grado non solo di sentire il segnale ma anche di interpretare, attraverso la sua risposta, la frequenza e il numero degli stimoli che le sono arrivati.

Quindi al discorso sulla complessità che si faceva all'inizio (la sinapsi fatta da milioni di recettori ognuno con la sua storia) si aggiunge questa complessità: cioè che i recettori non solo sono in grado di sentire il segnale ma anche di interpretarlo.

Ciò che succede esagerando e continuando a stimolare la cellula, alla fase di facilitazione segue una fase di **depressione**.

Questa fase di depressione (che vedremo fra poco guardando i farmaci) è addirittura più veloce, soprattutto se si crea la situazione per cui il recettore nicotinico viene fosforilato da delle chinasi.

Fermiamoci ora su questo esempio che mi serve per introdurre un concetto che ci servirà poi per analizzare dei farmaci.

Noi siamo partiti da il recettore nicotinico per l'acetilcolina, che è un recettore pentamerico, chiuso, quando arriva l'acetilcolina si apre, l'acetilcolina si stacca, viene distrutta e il recettore si chiude.

La storia però non è proprio così semplice. Il recettore è come fatto da una serie di molle messe insieme. Basta che arrivi l'acetilcolina e queste molle si spostano.

Stiamo parlando di una proteina con un peso molecolare di 400'000 (il recettore), su cui arrivano due molecole con peso molecolare di 125 (l'acetilcolina).

Come fanno molecole 2000 volte più piccole a “torcere” una proteina 2000 volte più grande? Vuol dire che evidentemente la molecola più grande è in equilibrio, le basta essere sfiorata per saltare, proprio come una molla.

Il fatto che il canale sia chiuso è soltanto una probabilità. E' probabile che senza l'acetilcolina questo recettore sia chiuso per i fatti suoi ma proprio perché si trova in questo equilibrio instabile può anche riaprirsi, poi richiudersi, poi riaprirsi....è una situazione un po' vibrante, in linea di massima quando non c'è neurotrasmettitore tende a restare chiuso ma può anche aprirsi.

Il neurotrasmettitore semplicemente sposta l'equilibrio verso l'apertura.

Il canale quindi è chiuso però è vibrante, ogni tanto si apre, quando arriva l'acetilcolina queste vibrazioni tendono a tenere il canale aperto.

Quindi il recettore oscilla continuamente tra stato chiuso e aperto, se non c'è l'agonista prevale lo stato chiuso ma non è esclusivo, se arriva l'agonista prevale lo stato aperto.

Il recettore è come una molletta che si apre e si richiude, nel momento in cui si richiude è un po' come una pistola, quando parte il colpo dalla canna si deve rilasciare il dito, il tamburo deve girare, il calcio deve tornare indietro per poter sparare, quindi c'è una ricarica del meccanismo di sparo.

Durante questo momento di ricarica il recettore non funziona: il recettore nel periodo in cui si richiude non può essere riaperto perché si sta richiudendo.

(slide 26, Stati biofisici e funzionali di un recettore-canale)

Quindi gli **stati funzionali** in realtà non sono solo 2 (chiuso o aperto) ma sono **3**:

- recettore chiuso → **stato di RIPOSO**
- recettore aperto → **stato ATTIVO**
- recettore aperto che si richiude → **stato INATTIVO o DESENSITIZZATO** → anche se presente l'agonista il recettore non può compiere il suo lavoro poiché si sta ricaricando.

Quando non c'è nulla prevale lo stato chiuso.

Quando c'è l'agonista prevale lo stato aperto,

ma subito dopo, siccome il recettore aperto si deve anche richiudere, rimane per un bel po' nello stato desensitizzato.

Si può notare che nel caso della facilitazione c'è un aumento delle vescicole rilasciate nel terminale pre-sinaptico, nel caso della desensitizzazione invece il recettore deve tornare disponibile e il modo migliore per comprendere bene questo fenomeno è andare a vederlo in vivo.

(slide 27)

Questo grafico mostra un **preparato sciatico-soleo**: in pratica si prende un ratto anestetizzato, gli si prende il tendine di Achille staccandolo dal tallone, lo si attacca con un filo ad un registratore di tensione, si fa una Tens al nervo sciatico applicandogli degli elettrodi. La Tens va a stimolare i nervi di una zona facendo contrarre i muscoli, più che stimolare direttamente il muscolo.

In questo esperimento si somministra uno stimolo al secondo, si registra lo stimolo sul nervo sciatico, si registra la contrazione del soleo. La forza che il soleo genera è costante *(il grafico presenta una serie di picchi ad altezza costante, l'altezza di questi picchi è la forza generata dal soleo, NdR)* dipende da quante fibre sono state depolarizzate, e quindi dipende dalla trasmissione sinaptica.

Con uno stimolo al secondo si ha una forza costante.

Somministro un farmaco **d-tubocurarina**. Si nota che la forza, pur mantenendo costante lo stimolo uno al secondo, diminuisce. La forza non diminuisce perché manca ossigeno ma diminuisce per un motivo di giunzione neuromuscolare.

Nella giunzione neuromuscolare c'è l'acetilcolina che attiva il recettore, quindi questo farmaco ha l'effetto di ridurre la capacità dell'acetilcolina di funzionare, si tratta di un **farmaco antagonista** (classico esempio di antagonismo).

Questo farmaco non fa niente altro che interferire con l'attività dell'acetilcolina e fa ridurre la forza di contrazione del muscolo.

Si stimola un **tetano** cioè una stimolazione ad alta frequenza.

(Il tetano è quella malattia dovuta all'interferenza della tossina tetanica con la funzionalità delle vescicole sinaptiche per cui c'è rilascio continuo di neurotrasmettitori ed i muscoli vanno in tetano).

Dal lato pratico nel tetano il nervo spara in continuazione e butta fuori più acetilcolina tanto da far aumentare la quantità di acetilcolina per cui il muscolo del preparato risponde e torna a rispondere bene.

Se poi si torna alla condizione di base (con 1 stimolo al secondo) si vede che la risposta si riprende un po' ma poi ritorna giù.

Si nota che subito dopo il tetano, quando c'è la facilitazione, c'è più acetilcolina e il muscolo si contrae nonostante ci sia il curaro che è l'antagonista.

Quindi la d-tubocurarina è un antagonista reversibile (si riesce a superare l'antagonismo aumentando l'acetilcolina) detto **antagonista competitivo**.

Se questo preparato fosse stato morsicato da un serpente cobra e avesse avuto un veleno che si lega in modo irreversibile sarebbe rimasto bloccato e basta; il fatto che aumentando l'acetilcolina riesco a restituire un po' di funzione vuol dire che si tratta di un antagonista competitivo.

Che il farmaco in questione sia un antagonista competitivo lo si vede anche facendo un altro gioco farmacologico: nella sinapsi c'è l'acetilcolinesterasi che distrugge l'acetilcolina, se si blocca questo enzima con un **anticolinesterasico** i livelli di acetilcolina sono più alti e in queste condizioni il muscolo (del preparato) riprende a contrarsi.

Quindi ci sono due dimostrazioni

- aumento del rilascio dell'acetilcolina
- inibizione della distruzione dell'acetilcolina

che generano entrambe aumento dell'acetilcolina e conseguente aumento della contrazione.

Abbiamo visto il classico esempio di antagonismo competitivo:

aumento l'agonista → vince l'agonista

aumento l'antagonista → vince l'antagonista.

In questo caso quello che succede è che il curaro si mette sopra ed impedisce all'acetilcolina di agire, nel momento poi in cui il curaro si stacca agisce poi l'acetilcolina.

(slide 27, secondo grafico)

Prendiamo in considerazione un altro farmaco il **Decametonio** o la più comunemente somministrata **Succinilcolina**.

Vediamo che la <u>forza di contrazione aumenta</u> quindi vuol dire che si tratta di un **agonista**.

Che si tratta di un agonista lo dice anche il fatto che abbiamo contrazione, quindi stimolazione del recettore nicotinico anche fuori dal nervo e anche nell'intervallo fra una stimolazione e l'altra; vuol dire che questo farmaco è veramente un agonista perché <u>potenzia l'azione del neurotrasmettitore</u> normale e per di più lo stesso farmaco agisce, anche nei momenti in cui non c'è il neurotrasmettitore, si nota infatti che ci sono delle contrazioni fuori comando che prendono il nome di **fibrillazioni**.

La cosa strana che succede è che quando è presente l'agonista in un primo momento aumenta la forza di contrazione ma dopo un attimo il muscolo non risponde più.

Succede una cosa come nell'esempio precedente con la d-tubocurarina ma mentre nel primo caso chiaramente già dall'inizio si capiva che si trattava di un antagonismo, nel secondo caso (con il decametonio) inizialmente si tratta di un agonismo ma poi il muscolo smette di funzionare.

Se si provoca il tetano il muscolo quasi non risponde, non c'è facilitazione.

Se si somministra l'anticolinesterasico non succede assolutamente nulla, anzi la situazione peggiora.

Sembra quasi, detto in termini banali, che il recettore si sia “scocciato” (se stimolato troppo prevale lo stato desensitizzato per cui il recettore non è più in grado di rispondere).

E' un fenomeno abbastanza comune ed è il fenomeno di **adattamento molecolare**: stimolazione alta comporta una <u>**desensitizzazione del recettore**</u>.

Desensitizzazione significa che <u>prevale quello stato in cui il recettore è non funzionante</u>.

Dal punto di vista pratico le due sostanze (antagonista competitivo e agonista eccessivo) non sono diverse perché portano entrambe a <u>paralisi da mancanza di stimolo</u>:

- nel primo caso (d-tubocurarina agonista competitivo) → lo stimolo non viene fatto sentire
- nel secondo caso (decametro antagonista eccessivo) → il recettore non sente lo stimolo

Quindi in entrambi i casi se non c'è lo stimolo la <u>paralisi è flaccida</u>.

La differenza sta nel fatto che:

- nel primo caso la paralisi è sempre flaccida

- nel secondo caso invece questi **farmaci** che prendono il nome di **depolarizzanti**, danno paralisi preceduta da depolarizzazione per cui inizialmente si ha contrazione a cui segue paralisi flaccida (30-40 secondi di ipercontrazione a cui segue rilassamento).

I farmaci che sono stati descritti sono farmaci attivi sui recettori nicotinici soprattutto della giunzione neuromuscolare, il loro utilizzo è soprattutto in **anestesia**.

Si utilizzano per provocare paralisi nel paziente anestetizzato. Durante gli interventi chirurgici, addominali soprattutto, si instaura una ipercontrattura che renderebbe difficoltosa prima di tutto la possibilità di tenere aperta la parete addominale durante l'intervento e soprattutto renderebbe impossibile la ricostruzione della parete addominale dopo l'intervento, per cui si usano questi farmaci: **d-tubocurarina** (chiamata così per gli Indios dell'Amazzonia tengono le frecce delle cerbottane dentro dei tubi nel fondo dei quali hanno questa resina che contiene tante sostanze fra cui questa) e **analoghi** sono **tutti antagonisti competitivi**.

La **succinilcolina** appartiene invece alla classe **paralizzante di tipo depolarizzante**.

La differenza fondamentale fra le due classi è la velocità:

- gli **analoghi della tubocurarina** sono grosse molecole, hanno una cinetica abbastanza lenta. Il chirurgo opera, il paziente è paralizzato poi il chirurgo finisce di cucire e ci vogliono ancora diversi minuti prima che il paziente sia muscolarmente autonomo, in grado di respirare da solo e quindi deve rimanere sotto controllo dell'anestesista e dell'equipe.

Indicati per interventi che durano ore.

- **Succinilcolina e Farmaci depolarizzanti**

Indicati per interventi più rapidi come il parto cesareo, altri interventi sull'utero, vescica, colecisti, appendice. Inutile tenere il paziente anestetizzato per mezzora quando l'intervento dura pochi minuti perché è uno spreco per il paziente ed uno spreco per il sistema sanitario.

La scelta nell'utilizzo è fondamentalmente legata alla velocità con cui si pensa di dover fare paralisi.

Con la succinilcolina veramente si va a goccia: si apre la flebo e dopo qualche secondo di vede il paziente che si contrae fortemente e dopo 20-40 secondi si rilassa. Appena spengo la flebo dopo 10 secondi il paziente torna ad avere tono muscolare. E' farmaco tipicamente da parto cesareo, da intervento ginecologico.

Siccome si tratta di paralisi spastica inizialmente ed anche molto intensa, soprattutto nelle persone anziane o atleticamente non preparate, accusano dolori il giorno seguente l'intervento come se avessero fatto sollevamento pesi.

Il fenomeno della **desensitizzazione** non è solo del recettore per l'acetilcolina ma si tratta di un fenomeno comune per tutti i recettori canale e anche per altri tipi di recettore.

Generalmente le risposte cellulari sono adattative in cui l'eccesso di stimolazione può provocare desensitizzazione, cioè il recettore non è più capace di trasdurre il segnale.

Il recettore per l'acetilcolina → non lascia più passare gli ioni

il recettore per l'adrenalina → non produce più il secondo messaggero

il recettore per il fattore di crescita per il tessuto nervoso → non produce più attivazione di tirosin chinasi

Quindi per desensitizzazione si intende: recettore che smette di funzionare.

C'è un altro meccanismo con cui le cellule si adattano alla stimolazione che è la **down regulation**: se c'è troppa stimolazione su un certo recettore si diminuisce il numero dei recettori sulla superficie.

Fumo → desensitizzazione, la nicotina stimola il recettore per l'acetilcolina, si stimola molto per cui si desensitizza il recettore.

Morfina → desensitizzazione e down regulation, stimola i recettori degli oppiacei, se si stimola un po' si perde sensibilità (desensitizzazione) ma si perde anche il numero dei recettori (down regulation).

Asma → desensitizzazione, con il ventolin se somministrato troppo di frequente si ha perdita di capacità di rispondere al farmaco

Si tratta di un adattamento del recettore che si può produrre con desensitizzazione tipica o down regulation, quindi controllando la capacità di rispondere della singola molecola o il numero di molecole presenti sulla superficie.

Sono fenomeni di adattamento cellulare all'eccesso di stimolazione e lo vedrete con quasi tutti i farmaci che agiscono sul recettore.

Al contrario, se si blocca un recettore la cellula non sente più il segnale ed ha dei meccanismi interni che la avvertono che il segnale non si sente, quindi deve migliorare la propria capacità di sentire il segnale e quindi **up regulation**: aumento del numero di recettori presenti sulla superficie della cellula.

Questi fenomeni di adattamento da eccesso e mancanza di stimolazione devono essere presi in considerazione quando si fa una **terapia**.

Se somministro un farmaco agonista (sto stimolando il tessuto) e la risposta del tessuto è perdere recettori, cioè il tessuto perde la capacità di rispondere allo stimolo, cosa faccio? Aumento la dose in modo da recuperare efficacia.

Ad un certo momento smetto di dare il farmaco ma le cellule non hanno più recettore, vuol dire che quel sistema ha perso la capacità di rispondere.

Se somministro un antagonista, il tessuto risponde con una up regulation (mentre faccio terapia con antagonista è irrilevante l'up regulation perché l'antagonista blocca anche i recettori in più che sono presenti ma quando tolgo il farmaco i recettori in più "sentono" troppo).

Per cui quando si fa una terapia prolungata con un agonista bisogna stare attenti che al momento della sospensione si ha un tessuto che non risponde più all'agonista naturale; quindi è meglio sospendere gradualmente la terapia con l'agonista piuttosto che sospenderla di colpo.

Lo stesso vale per una terapia con l'antagonista dove si ottiene un tessuto ipersensibile, bloccato dall'antagonista, nel momento in cui si toglie l'antagonista il tessuto risponde eccessivamente.

Quindi con alcuni farmaci ed in alcune terapie la sospensione deve essere graduale, un tipico esempio è quello con i **cortisonici**: si agisce su una vita che è fondamentale per la sopravvivenza dell'individuo, se il cortisone non c'è si muore e poiché ha un ritmo circadiano generalmente si muore di notte perché è il momento in cui i tassi di cortisone sono i più bassi.

Ci sono altri farmaci come le **benzodiazepine** che quando vengono sospese danno problemi legati all'iperstimolazione da trattamento.

In alcune situazioni è raccomandata non la sospensione improvvisa ma una sospensione graduale, in alcuni casi queste manifestazioni da adattamento non si sentono, in altri casi si sentono bene.

Il tossicodipendente per esempio, che è l'eccesso di adattamento, se non prende una nuova dose va in crisi d'astinenza.

Up and down regulation dei recettori si ha costantemente, in genere è anche alla base di fenomeni di adattamento che servono alla crescita del tessuto, per la memoria, per cui si può avere un potenziamento ed una depressione della forza sinaptica.

Abbiamo parlato del recettore nicotinico per l'acetilcolina come esempio di molecola aggredibile da farmaci agonisti e da farmaci antagonisti, abbiamo visto un esempio di antagonismo competitivo, anche un esempio di eccesso di agonismo con desensitizzazione e l'utilizzo in anestesia.

Non vorrei che vi passasse il messaggio distorto che soltanto quelli che abbiamo trattato (tubocurarina e farmaci depolarizzanti) siano i farmaci che agiscono sul recettore per l'acetilcolina e che siano soltanto ad uso anestetico o per curare il recettore per l'acetilcolina.

Innanzitutto si può vedere che il recettore per l'acetilcolina è target di numerosi farmaci, non solo di agonisti e antagonisti competitivi che abbiamo visto, ma anche di:

- alcuni **steroidi**
- alcuni **ligandi allosterici**, che non fanno niente direttamente ma facilitano azione dell'agonista
- **barbiturici** che bloccano il canale, utilizzati in anestesia con significato di depressione della trasmissione neuromuscolare

Soprattutto è importante ricordare che il sistema colinergico è ben importante nel cervello. La giunzione neuromuscolare è una piccola stazione esterna, per il resto c'è una gran quantità di sistema colinergico nel cervello che è fatto sia da recettori nicotinici ma non solo, anche da un'altra classe di recettori muscarinici che vedremo successivamente.

(slide 32)

Sistema colinergico nel SNC

In questa figura si vedono le **zone** dove esistono neuroni **che usano l'acetilcolina** come neurotrasmettitore:

- soprattutto zona ipotalamica e talamica
- in corrispondenza dei circuiti ippocampali dove spiegano il significato funzionale del sistema colinergico nella memoria

Queste nella tabella invece sono le **funzioni tipicamente associate al sistema colinergico**:

- attenzione
- memoria di lavoro
- memoria spaziale
- memoria esplicita
- codificazione delle informazioni
- controllo sensori-motorio
- controllo motorio

(slide 33)

Recettori nicotinici periferici e centrali

Muscolare: fatto da 2 subunità $\alpha_1\beta_1$ /γεδ

Gangli del SNC: soprattutto recettore α_7

Presinapsi SNC: tipicamente $\alpha_4\beta_2$

Ippocampo, locus ceruleus, retina: $\alpha_3\beta_4$

Quello che è importante sapere è che ci sono zone del cervello che esprimono recettori nicotinici con composizione in subunità diversa e che esistono agonisti ed antagonisti che sono diversi a seconda dei tipi di recettore.

Ciò è alla base della speranza terapeutica di riuscire ad individuare farmaci che siano in grado di modificare la capacità di apprendimento senza interferire sul controllo motorio, cosa che fin ad ora è poco fattibile.

(slide 34)

Farmaci del sistema nicotinico

Questa diapositiva raccoglie la farmacologia del sistema nicotinico.

Agonisti (quelli più usati in clinica) - nicotina a scopo voluttuario, è il più potente farmaco tossico dipendente a disposizione, usato anche in campo medico come cerotto per contrastare la dipendenza da nicotina

Depolarizzanti usati soprattutto in anestesia

Antagonisti competitivi AchR muscolare anche questi usati in anestesia

Antagonisti competitivi AchR gangliare/nervoso antagonisti competitivi del recettore nicotinico abbondantemente espresso anche nei gangli del sistema ortosimpatico, nel punto di contatto fra neurone pre e post-gangliare. Sono ganglioplegici. Farmaci molto difficile da usare, dagli effetti massicci, utili in anestesia per controllare in modo rapido e deciso la pressione che classicamente durante gli interventi deve essere abbassata per ridurre il sanguinamento.

IL RECETTORE PER IL GABA

Il GABA è un aminoacido inibitorio.

Il recettore canale viene chiamato $GABA_A$ mentre $GABA_B$ è un altro tipo di recettore per il GABA che non è di tipo canale (lo vedremo più avanti).

La caratteristica è che il recettore $GABA_A$ conduce gli Ioni Cloro.

Quando il recettore si apre gli ioni Cloro entrano o meglio vanno lungo il loro gradiente elettrolitico che tipicamente, siccome l'interno è negativo, spinge gli Ioni negativi ad uscire.

L'elettronegativa interna è data dal funzionamento di Pompe. Nell'embrione e nel bambino, soprattutto a livello midollare, il gradiente è contrario per cui l'apertura del canale del GABA induce depolarizzazione invece che iperpolarizzazione.

La sinapsi gabaergica è molto simile a quella che abbiamo visto con la differenza fondamentale del meccanismo di chiusura del segnale che è fatto, nel caso del glutammato, da un reuptake da parte delle cellule gliali che sono intorno alla sinapsi.

Lezione di Farmacologia (sem1) del 31/10/2012 (1)

31/10/2012 Lezione 2 – Trasduzione del segnale (Continua)

(*Molte frasi le ho riformulate per rendere più comprensibile la lezione NDR*)

La risposta recettoriale a un farmaco, anche a livello modulatorio endogeno (credo), è soggetta a continua modulazione da parte del sistema cellulare che è finalisticamente indirizzato verso la riduzione di un eccesso di stimolazione o l'aumento di sensibilità in mancanza di stimolazione.

Questi sono meccanismi finalistici che la cellula adotta affinché il processo di eccesso di stimolazione non necessariamente comporti la perdita di sensibilità al neurotrasmettitore endogeno.

Sia i canali ionici voltaggio dipendenti, ma soprattutto i recettori canale, sono suscettibili alla desensibilizzazione, motivo per cui le risposte delle sinapsi sono molto fini ma anche molto lente nel tempo.

Esiste un meccanismo di codifica delle informazioni che non è basato esclusivamente sul sito;

ormai sta diventando sempre più chiaro che nel SNC, che è il sistema che codifica l'informazione tra cellula e cellula, si tiene conto? del fattore tempo e del fattore frequenza. Quindi, durata della stimolazione e frequenza dello stimolo durante la (?), sono parametri fondamentali della codifica dell'informazione.

1 - Desensitizzazione si ha quando si innesca quel meccanismo per cui il recettore non bascula tra i suoi stadi di chiuso (o di riposo) ed aperto, ma è desensibilizzato ad ognuno di questi stadi.

È promiscuo, nel senso che si può passare da uno all'altro in un'altra direzione.

Normalmente:

- lo *stadio di riposo* prevale in condizioni di bassezza di agonista,
- lo *stadio aperto* prevale in presenza di agonista,
- lo *stadio di desensibilizzazione* è uno stadio che prevale nella situazione di agonismo eccessivo, cioè nella prolungata attivazione.

La singola molecola fa questo per forza però lo può fare anche a riposo spontaneamente.

(slide 29)

2 - Downregulation è un altro meccanismo di regolazione cellulare della sensibilità al neurotrasmettitore che è basato sulla **regolazione del numero**:

mentre la desensitizzazione è basata sulla regolazione della capacità del recettore di rispondere all'agonista , la downregulation è basata sulla capacità della cellula di ridurre il numero di recettori disponibili per qualsiasi molecola, riducendo di conseguenza anche la risposta cellulare alla stessa molecola (–ndr).

La downregulation è più abbondante nei tessuti non nervosi, per tutti quei recettori che servono in tali tessuti per produrre una risposta. Ci sono la componente muscolare liscia, la componente secernente, ecc.., che hanno ovviamente recettori per neurotrasmettitori, per neuromodulatori, per neuropeptidi e alcune cellule anche per ormoni.

<u>Questi recettori sono finemente controllati come numero</u> con un meccanismo che può essere:

- o di downregulation, generalmente associato a un *eccesso di stimolazione*,
- o di upregulation , generalmente associato a una *mancanza di stimolazione*.

3 - Upregolation è essenzialmente l’opposto della downregolation, ovvero è una condizione in cui la cellula aumenta la propria sensibilità ad un agente/farmaco mancante aumentando il numero di recettori per quella sostanza

L'upregulation è molto semplice, essendo classicamente una regolazione trascrizionale (= quanta proteina producono).

La downregulation è leggermente più complessa: avviene perché i recettori presenti sulla superficie della cellula non vengono espressi sulla stessa costitutivamente, ma sono invece messi e rimessi in continuazione, grazie a dei cicli di internalizzazione a cui segue o l'indirizzamento alla membrana o l'indirizzamento ai lisosomi per la distruzione.

Generalmente, anche a livello delle sinapsi, il numero di recettori è finemente controllato da dei parametri che sono: *intensità, frequenza, numero di stimoli.*

Essi regolano la quantità di recettori presenti anche nel giro di pochi minuti: è una regolazione abbastanza rapida di adattamento.

Il potenziamento, che corrisponde all'inserzione di nuovi recettori in membrana, ne è un esempio. Se si parla del glutammato questo è un segnale che gli arriva per esempio dall aumento del cAMP. Nella depressione si ha invece un aumento della quota intracellulare (di cAMP).

Quindi il recettore può essere in sede di membrana, può essere a livello delle sinapsi, può essere internalizzato per ritornare poi di nuovo in membrana o finire nei lisosomi dove viene distrutto. (Prima di chiudere il sistema colinergico voglio rivedere questo punto che tipicamente viene scordato.) E' vero che voi studiate i farmaci utilizzati dagli anestesisti per indurre paralisi ma ricordatevi che il sistema colinergico è enorme e importante (funzionalmente) a livello del SNC. Sin dai primi stadi della dementia che sfocerà poi nell'Alzheimer, l'unica cosa che si nota (se il paziente muore per altre cause e si fa un'autopsia) è la scomparsa dei neuroni colinergici che producono Ach. Quindi, i neuroni che funzionano usando l'ach come neurotrasmettitore, sono implicati in importanti fenomeni tipo memoria e affettività. La loro scomparsa determina demenza, che è l' incapacità di avere memoria, fino alla forma più grave che è l'Alzheimer che non è soltanto un morbo di "non ricordarsi neanche chi sono io" (testuale ndr), ma anche un problema di controllo dell'affettività.

Inoltre, il sistema colinergico è anche presente a livello dei nuclei della base che sono centri che controllano la fine regolazione del movimento. Uno strumento molto utile sono farmaci colinergici di accompagnamento per il trattamento del parkinson. Il parkinson è una malattia data soprattutto dalla patologia di neuroni della substantia nigra e quindi neuroni che producono dopamina, però c'è una farmacologia di accompagnamento, che è appunto una farmacologia colinergica. Ricordatevi di come il sistema colinergico sia un sistema molto diffuso nel sistema nervoso centrale. E' diffuso sia nella sua componente nicotinica (già vista) che nella componente muscarinica (che vedremo più avanti). Attenzione sostenuta, memoria di lavoro, memoria spaziale, memoria esplicita, codificazione dell'informazione, controllo (?) sono le principali funzioni legate al sistema colinergico. Se non c'è il sistema colinergico o è farmacologicamente alterato, saltano queste funzioni.

Quindi diversi tipi di recettori vi dimostrano come i recettori nicotinici centrali sono presenti nel SNC nelle loro composizioni subunitarie diverse da quelle muscolari come è diversa la loro sensibilità farmacologica. Questa è una farmacologia per ora quasi inesistente. Però la farmacologia di questo sistema diventerà importante, essendo il sistema colinergico così legato ai processi di memoria affettività ecc ecc. Già lo è per i farmaci che interferiscono con la produzione di Ach (quindi non sul recettore), potenziando il sistema colinergico. Questi stanno diventando farmaci d'abuso nei colleges anglosassoni. Sono usati dagli studenti per amplificare le capacità di memoria. In realtà stanno diventando farmaci d'abuso, si sta creando una nuova tossicodipendenza non più

legata al sistema dopaminergico (cocaina). La loro efficacia terapeutica è questionabile: si tratta di un vero e proprio doping. (segue un discorso che non capisco del tutto per i rumori di fondo, ma ribadisce che si sta lavorando sulla farmacologia del sistema colinergico e sui farmaci per la memoria).

RECETTORE-CANALE DEL GABA

-

(slide 36 – 37)

Oggi ci incentriamo su questi recettori del GABA, tra l'altro della stessa sottoclasse del recettore nicotinico, quindi dal punto di vista molecolare non diciamo nulla di nuovo. La stessa storia raccontata per i recettori nicotinici la possiamo raccontare per i recettori del GABA.

Il recettore del GABA ha alcune particolarità farmacologiche che sono rilevanti. Ha una funzione (un'implicazione nelle funzioni generali) così rilevante al punto che molti dei farmaci utilizzati che interferiscono con la funzione del recettore GABAergico sono farmaci di uso importante.

Il **GABA** (**acido γ-amminobutirrico) ,** è un aminoacido modificato, un neurotrasmettitore che esplica una funzione di tipo inibitorio (l'inibizione è una iperpolarizzazione e viceversa l'eccitazione che è una depolarizzazione)

Il recettore nicotinico è eccitatorio: facendo passare nella cellula cationi, quindi cariche positive, provoca depolarizzazione.

Come il nicotinico c'è il recettore per il glutammato (di cui se ne riconoscono diversi tipi).

Ci sono diversi tipi di recettori alle sinapsi eccitatorie, mentre per le inibitorie ne abbiamo pochi, come per esempio il recettore per la glicina che è limitata quasi esclusivamente al midollo spinale.

Il recettore GABA è il recettore inibitorio per eccellenza, conduce **ioni cloro (cloruro Cl-).**

La sua attivazione causa un'iperpolarizzazione, quindi una riduzione dell'eccitabilità, e ciò comporta un allontanamento dalla condizione adatta per generare un potenziale d'azione.

Ricordate, la cellula nervosa non risponde a una sinapsi, bensì integra le informazioni che le giungono da qualche migliaio di sinapsi: alcune sono inibitorie, altre sono eccitatorie, altre non sono né l'una né l'altra (modulatorie ndr).

Le sinapsi dove c'è utilizzo del GABA sono sinapsi inibitorie:

fa passare cariche negative in risposta alla secrezione di GABA g il segnale si spegne = la sinapsi è il punto in cui il terminale nervoso dice al postsinapsi :"FAI!" e lo dice in un istante che deve essere chiaro preciso e breve. Quindi il segnale deve scomparire.

Il **reuptake del GABA** è effettuato soprattutto dalle cellule gliali che stanno intorno, ma anche dalle stesse cellule presinaptiche, tramite un meccanismo di "risucchio" rapido. Le cellule gliali non sono quindi lì solo a fare le "belle statuine" ma hanno anche un ruolo funzionale a livello sinaptico. Se la cellula gliale rallenta il reuptake del GABA, il GABA persiste più a lungo.

Abbiamo per esempio un farmaco anti epilettico che era inizialmente un eccipiente che veniva utilizzato nella cura dell'epilessia infantile poiché inibisce la ricaptazione del GABA *(non riesco a capire il nome dell'eccipiente e ho dovuto decisamente riformulare la frase).*

Esso è un farmaco "sporco"poichè ha più di un meccanismo di azione, ma ciò che è rilevante è l'inibizione del Re-uptake del GABA: esso porta a un aumento del GABA e quindi del segnale inibitorio e perciò riduce la probabilità che insorga un atto epilettico nelle zone focali.

Il GABA, una volta riassorbito, viene rimesso dentro nella vescicola sinaptica, pronto per un'altra secrezione.

(slide 38)

Il metabolismo del GABA è piuttosto complesso, prevede l'utilizzo di glutamina, la sua metabolizzazione da parte di una GABA transaminasi a livello dei mitocondri delle cellule gliali e nervose.

(slide 39 – 40)

Dal punto di vista molecolare il GABA è molto simile al recettore nicotinico, è un pentamero fatto da diverse subunità (soprattutto **α** e **β** , ciascuna presente in più forme e in alcune aree anche una subunità **γ**).

(slide 41)

Vi sono siti di legame rilevanti sia per gli agonisti sia per il GABA, sia per le benzodiazepine, siti di legame per farmaci che non sono agonisti diretti ma sono modulatori dello stage (si legano in punti diversi ndr). Ci sono altri farmaci che sono in grado di legarsi all'interno del canale, per esempio i barbiturici. Questo ha delle conseguenze sul modo d'agire di questi farmaci. Alcuni anestetici generali devono il loro effetto al fatto che tengono aperto il canale del cloro, quindi le cellule del SNC si iperpolarizzano.

(slide 42)

Al contrario, parlando di una farmacologia antagonista, esistono antagonisti diretti del GABA, che si legano dove si lega GABA, e farmaci che competono con altre sostanze agoniste che si legano su un punto diverso. Abbiamo farmaci tipo una picrotossina che tengono chiuso il canale che quindi impediscono l'iperpolarizzazione e quindi rendono la cellula ipereccitabile. La picrotossina è una classica tossina, la tossina di un pesce che fa fare paralisi spastica.

[NB credo che il prof si sia sbagliato, io ho trovato questo: PICROTOSSINA : Sostanza amara ricavata dai frutti della coccola del Levante (Anamirta cocculus). Si trova in commercio in cristalli aghiformi incolori dall'intenso sapore amaro, con punto di fusione 200°C. Ha la proprietà di legare selettivamente i recettori del GABA. È una sostanza ad azione convulsivante, con forte azione eccitante sul centro del respiro, sul centro vasomotorio e i centri inibitori del vago, usata per endovenosa soprattutto negli avvelenamenti da farmaci deprimenti il sistema nervoso centrale, in particolare nel barbiturismo acuto].

Comunque impedisce l'inibizione dei motoneuroni che scaricano senza nessun coordinamento. Il profe continua a parlare del pesce e dice che utilizza la picrotossina per uccidere i granchi. Una particolarità dei granchi è che utilizzano il sistema GABAergico come noi utilizziamo il sistema colinergico. Il pesce blocca quindi il granchio bloccando la funzione in questo caso eccitatoria del GABA.

Il recettore del GABA è target di farmaci popolari.

LE BENZODIAZEPINE

(slide 43 – 44)

Le benzodiazepine: un esempio sono il *Valium* e il *Lithium*; sono farmaci che “tipicamente i nonnetti usano per andarsene a dormire”.

Parlando di benzodiazepine, bisogna parlare anche di **barbiturici**. “Se qualcuno di voi è stato operato, l'anestesista gli ha fatto il giochino di dirgli “conta fino a 5” mentre iniettavano qualche cosa e volevo vedere io chi riusciva ad arrivare a 3. Si casca giù addormentati di botto.” (testuale ndr). Questi (utilizzati per l'anestesia ndr) sono i barbiturici, chiamati farmaci ipnotici. Sono i sonniferi di una volta, molto pericolosi. Sono d'altronde i sonniferi con cui ci si suicidava (vedi Marylin Monroe).

Un altro ipnotico è l'**alcool**. Ha gli stessi effetti di inibizione di barbiturici e benzodiaepine perché il target di azione è sempre quello, il recettore del GABA.

Il meccanismo di azione delle BZD è molto banale.

(riferendosi alla slide 43) Questo è il meccanismo del *patch clamp*, quella tecnica che prende un pezzettino di membrana e valuta le correnti attraverso i canali quando questi si aprono.

Questa è una cellula nervosa, in quel punto che misuro lo espongo al GABA e vedo l'attività delle cellule al GABA e vedo che si apre e si chiude. La scala temporale è un po' schiacciata.

(Il canale) si apre e si chiude (attività di flick). Questo è un equilibrio precario in cui i canali sono chiusi sono aperti sono chiusi sono aperti, poi quando (il recettore) sente bene il GABA, si apre un po' di più, si apre ben bene, decide di rimanere aperto, si richiude, si riapre...questa è la normale attività del GABA.

(sempre riferendosi al patch clamp della slide 43) Qui c'è la benzodiazepina, in questo caso un analogo funzionale del Valium. Risposta zero. E' un agonista risposta zero, dovrebbe quindi essere un antagonista. Tuttavia cambiamo subito idea nel momento che all'analogo del valium, a questa benzodiazepina, aggiungo il GABA. Innanzitutto, la cellula si mette a rispondere, ma non risponde solo per quello che gli dice il GABA di fare, risponde molto di più. Aumenta sia l'apertura, ma aumenta soprattutto la quantità di eventi (quante volte si apre). Quindi, le benzodiazepine, sono di per sé prive di azione, ma sensibilizzano notevolmente il recettore per l'azione dell'agonista.

Questo modo di funzionare si dice **allosteria**, (che non vuol dire andiamo tutti a divertirci.. -_-“), vuol dire che faccio qualche cosa stando vicino. Abbiamo modulazione allosterica. In altre parole c'è il GABA che dovrebbe arrivare qui sopra, così ci arriva meglio (credo indichi la slide 41). Quindi, il modulatore allosterico fa quello spostamento molecolare che facilita o l'attaccarsi del GABA o la capacità del GABA di stortare e aprire il canale. Comunque sia, la capacità di risposta del recettore del GABA aumenta enormemente al GABA. (Ma ricordatevi), se non c'è il GABA, la benzodiazepina non fa niente.

Guardate invece il barbiturico (sempre riferito al patch clamp). Un barbiturico dato senza GABA fa questo. Questo qui se guardate è un pochettino simile a quello che fa il GABA però è sostanzialmente diverso, perché la cosa che appare evidente è che il canale tende a rimanere aperto più a lungo. Vedete, qui quando c'è il GABA, si apre e si richiude, si apre e si richiude, si apre e si richiude. Qui si apre e rimane aperto in continuazione dopo qualche tentativo di chiudersi. Che cosa sta succedendo a questo recettore? Il barbiturico che si è legato in questo punto fa un po' come uno stuzzicadenti, si piazza qui dentro e impedisce al canale di richiudersi. Per cui, magari il GABA se ne va via ma il canale non si richiude perché c'è il barbiturico dentro. Quindi il barbiturico tiene il canale aperto. Se andiamo a vedere il risultato finale, questa combinazione e questa fanno più o meno la stessa roba, tutte e due producono un forte incremento della trasmissione GABAergica, ma c'è una differenza fondamentale: per fare questo ho bisogno della stimolazione del recettore, della sinapsi funzionante, per fare invece quest'altro mi basta il GABA.

Quando uno prende un barbiturico, se ne prende un po' gli viene un po' di abbiocco, ne prende troppo, s'addormenta, ne prende molto, continua l'attività di inibizione, e perde alcuni controlli, ne prendo ancora di più, l'inibizione è sempre più forte, tutte le cellule si iperpolarizzano e si iperpolarizzano anche cellule in punti importanti, tra i quali un punto di debolezza intrinseco che è il nostro respiro. Il respiro è comandato da muscoli striati che richiedono attività centrale per funzionare.

Anche se dormiamo, bisogna che questi muscoli funzionino, e abbiamo un centro di controllo del respiro che ci permette di farli funzionare anche se ci addormentiamo. Ma se noi andiamo a deprimere tutte le stazioni del SNC compreso quello (del respiro), i motoneuroni del diaframma e dei muscoli intercostali non ricevono più segnali e l'individuo smette di respirare. Questo è il motivo per cui l'eccesso di barbiturico era usato una volta come strumento di suicidio (sono usati oggi in combinazione con miorilassanti per eutanasia e iniezione letale ai condannati a morte ndr). Infatti l'individuo si addormentava, nel giro di pochi minuti perdeva conoscenza e non si risvegliava più perché faceva un arresto respiratorio a cui seguiva fondamentalmente l'arresto cardiaco. Come si interveniva? Con la lavanda gastrica, per cercare di tirare via tutto quel barbiturico che si era ingoiato.

Le benzodiazepine hanno una modalità d'azione differente , hanno bisogno del GABA per funzionare. Io prendo la benzodiazepina e sono intontito, ne prendo un pochettina di più e mi addormento, ne prendo parecchia e mi addormento parecchio. Ma non arrivo a una depressione generalizzata del SNC, perché, se io riduco l'attività delle cellule nervose, riduco la secrezione di GABA, e se riduco la secrezione di GABA la benzodiazepina avrà meno effetto. Quindi è un'autolòimitazione. La benzodiazepina stimola il recettore GABAA, ma siccome richiede GABA finisce automaticamente con l'essere autolimitante. Di conseguenza, con le benzodiazepine si può anche dormire per un giorno intero, ma non si muore di arresto respiratorio, e quindi non è più uno strumento da suicidio. Per suicidarsi bisogna salire in cima a un palazzo e buttarsi giù. Qualcuno di voi ha mai assistito a un suicida? (Comincia una digressione sul suo amico israeliano e una ragazza suicida, sostenendo che la maggior parte dei suicidi sono finti, dimostrativi. Un sintomo di depressione è il suicidio irreversibile)

DOMANDA: Perché la benzodiazepina è autolimitante?

RISPOSTA: perchè se con questo meccanismo si inibisce una cellula, questa cellula non è più in grado di stimolare la cellula che libera il GABA. Se la cellula che libera il GABA non libera il GABA, la benzodiazepina non funziona. Quindi ci sono alcune aree del cervello che vengono inibite ma non si riesce a ottenere quel livello di inibizione massiccio e generalizzato che porta a non controllare centri non molto ben protetti come il centro del respiro, il centro della temperatura e via dicendo. Questi sono centri che vivono anche nel decerebrato. Molti dei centri talamici e ipotalamici sono centri vegetativi che possono vivere indipendentemente da tutti i loro meccanismi di controllo. Se in questo meccanismo di controllo si ha un neurone GABAergico, e si ha un recettore che sente questo GABA, questo recettore che sente GABA viene inibito bene se c'è la benzodiazepina. Ma se in un certo momento la benzodiazepina impedisce l'eccitazione che stimola quel neurone a produrre il GABA, questo neurone non produce più il GABA e quindi la benzodiazepina non serve. Ergo, c'è inibizione ma non così massiva come con i barbiturici, il cui meccanismo è indipendente dal GABA.

(slide 45 – 46)

L'alcool ha una situazione simile a quella del GABA, con una differenza. Il meccanismo di azione dell'alcool è sicuramente complesso. Prevede l'attivazione di alcune chinasi, cioè enzimi che producono fosforilazione, che fosforilano il recettore GABAA a livello della subunità γ. Ricordiamoci che esistono diverse subunità che non sono ubiquitarie, sono cioè presenti solo in alcune zone del cervello. Quando queste subunità sono fosforilate, è come se quei recettori avessero un barbiturico di mezzo, cioè funzionano con il canale spalancato e la cellula si iperpolarizza. Però,

non sono recettori ubiquitari, sono soltanto in alcune zone (Un pochettini in corteccia, un pochettini in cervelletto, una piccola parte nei nuclei motori, pochissimi a livello ipotalamico e talamico). Quando ci si ubriaca, la prima cosa che si comincia a perdere sono le capacità motorie (coordinamento e coordinazione, riflessi..). Aumentando la dose il processo si attiva anche in corteccia per cui si tende ad addormentarsi e poi si tende ad avere manifestazioni psicomotorie di vario genere.

L'effetto è quindi simile a quello dei barbiturici e delle benzodiazepine, con la differenza di manifestazione che riflette la differenza del target. Le benzodiazepine hanno effetto diffuso (pur essendo autolimitanti), i barbiturici agiscono su tutti i recettori del GABA, l'alcool è limitato nella sua azione (-->subunità γ ndr). Tutte e tre comunque hanno un punto in comune, stimolano il sistema GABAergico, cioé il sistema inibitorio del SNC. Hanno quindi sintomatologia comune di depressione del SNC. Se si ha depressione del SNC, la prima cosa che succede, la più ovvia, è che ci si addormenta. Quindi tutti questi farmaci sono *ipnotici.*

Poi, a seconda del tipo di farmaco e della sua capacità di legare di più recettori della corteccia rispetto ai recettori del cervelletto o rispetto ai recettori del tronco, posso avere ulteriori specificazioni.

I *barbiturici* hanno un utilizzo limitato da due contesti:

1) l'induzione dell'anestesia, in cui la dose è tale da ammazzare per 5 secondi, perché quella dose va tutta al cervello ed è tale da indurre paralisi respiratoria, ma si sciacqua rapidamente (vedi lezioni farmacocinetica, Leone). Comunque per 2-3 minuti non si capisce più niente, si cade addormentati, al limite della paralisi respiratoria. Però in sala chirurgica ci si deve preoccupare, la respirazione è continuata artificialmente con la bombola o col palloncino. Generalmente l'anestesia è continuata con il gas. In ogni caso, paralisi respiratoria o meno, poco importa perché si è in un ambiente controllato.

2) Come antiepilettici. Sono utilizzati su alcune forme di epilessia, e sono comunque i più utilizzati per due motivi: -pochi effetti collaterali, quindi adatti a periodi prolungati- rapida assuefazione, non influisce su memoria e attenzione già dopo 2/3 somministrazioni.

Il campo di utilizzo dell'*alcool* è la Valpolicella e analoghi…

Le benzodiazepine sono classificate come *ansiolitici sedativi* o *ipnotico-ansiolitico sedativi*.

Ipnosi= ti addormento.

Sedare=riduzione dell'attività di vigilanza del SNC senza arrivare al sonno con relativi ritardi di riflessi.

Ansiolitico=che fa passare l'ansia.

Quindi lo spettro d'azione delle benzodiazepine comprende sonno, sedazione, ansia. Sono i tre elementi che nella vita moderna schizzano a destra e sinistra. ==> il 15% degli adulti assume benzodiazepine almeno una volta all'anno.

L'assunzione di benzodiazepine non è una cosa triviale, perché è il classico farmaco che dovrebbe essere preso per uno scopo e che viene invece preso per altri motivi. (digressione polemica contro l'abuso di ansiolitici. Consiglia di “darsi una calmata”).

NB le benzodiazepine non dovrebbero essere prese per più di 10/15 giorni di fila!

Farmaci dotati di proprietà sedativo-ipnotiche

-

1. BDZ e analoghi (es. zolpidem)

2. Barbiturici

3. Alcool

4. Meprobamato / cloralio idrato

5. Antipsicotici

6. Antidepressivi

7. Antiistaminici

8. Buspirone (agonista parziale 5-HT1A e D2)

9. Ramelteon: agonista MT1 e MT2 (melatonina ïƒ ritmo circadiano)

10. (Cita anche la XAMANINA contro il “mal d'auto”)

(slide 47 – 48)

Torniamo alle benzodiazepine. Questa è la forma del Diazepam

In generale, una benzodiazepina presenta anelli diazepinici con una serie di sostituzioni con continua presenza di un alogeno, Iodio o Cloro. Gli altri ipnotici hanno forme diverse. (comunque dice che la chimica non gli interessa).

(slide 49 – 50)

In grassetto (s. 50), i farmaci disponibili con impegnativa. Il Diazepam (Valium) è un farmaco disponibile con impegnativa, ma non è un farmaco attivo. Diventa composto attivo una volta demetilato da un enzima della catena del citocromo p480, azione che avviene per lo più a livello epatico, diviene quindi dimetildiazepam (credo!) che è un composto attivo. L'oxazepam è l'altro che è presente sia come farmaco che come metabolita del diazepam. Una serie di farmaci sono quindi pro-farmaci, cioé sostanze che hanno significato medico, ma che non sono attive finché non vengono metaboliazzate all'interno del corpo. Ciò fa comprendere perché c'è variabilità individuale alla risposta ad alcuni farmaci. Essenzialmente, se uno ha l'enzima che trasforma ottimamente il profarmaco, o comunque un buon fegato, può metabolizzare al meglio il profarmaco stesso e viceversa in situazioni opposte (per cause genetiche o vecchiaia). Si può quindi comprendere l'enorme variabilità individuale per quanto riguarda la risposta alle benzodiazepine, come per contro anche il fatto che ci siano molti tipi di benzodiazepine in commercio. Le differenze tra i vari tipi sono minime, ma incisive. Alcuni individui sono dotati di una serie di enzimi metabolici specifici quindi rispondono in un dato modo a un dato farmaco. Quindi, sempre lo stesso farmaco con uguali spettro e meccanismo di azione, ma attivazione molte volte differente. Si capisce anche perché molte volte gli anziani hanno una scarsa risposta alle benzodiazepine: non solo perché effettivamente spesso dormono tutto il giorno, ma anche perché la risposta del fegato è blanda e più lenta.

(slide 51 – 55)

Un'altra cosa che distingue le benzodiazepine sono le proprietà farmacocinetiche, e in particolare, l'emivita. L'emivita, essenzialmente, dice quanto dura il farmaco al mio interno (prendo il farmaco, poi lo espello con urine, sudore, ecc ecc). Il tempo con cui si elimina, mi condiziona la durata del farmaco. Se un farmaco mi rimane dentro per un mese, il farmaco sarà attivo per un mese. Se mi rimane un giorno per un giorno, un'ora per un'ora. La velocità di eliminazione influenza la durata d'azione di un farmaco.

L'emivita dei farmaci cambia notevolmente. Si va dalle poche ore come Oxazepam (4-10 h), un tempo brevissimo per il Triazolam (3-5 h), si va al Clorazepato che ha un'emivita di giorni (50-100 h).

Comincia una digressione il cui succo è: se si hanno problemi ad addormentarsi, quello che serve è una benzodiazepina che favorisca appunto l'addormentarsi, ma che non vada a espletare i suoi effetti a lungo, cioè che non influisca sul sonno. Se il problema non è l'addormentarsi ma il fatto che ci si risveglia in piena notte, serve un farmaco con una durata abbastanza lunga da impedire il risveglio prematuro. Se il problema è l'ansia, serve un farmaco che copra le 24 ore.

Viene da sé che, oltre alla variabilità individuale, questo è un altro motivo per cui ci sono diverse benzodiazepine. Ovvero, ci sono diverse situazioni che richiedono un effetto più o meno prolungato.

Quindi, le benzodiazepine sono dotate di effetti ansiolitici, ipnotico-sedativi. Inducono la sedazione e quindi il sonno con una sequenza dose-dipendente, ovvero più se ne prende, più si passa dalla banale sedazione all'ipnosi. A dosi superiori sono usate per il controllo delle convulsioni, non solo come antiepilettici, anche in caso di convulsioni non di tipo epilettico. Tipicamente, le convulsioni da febbre nel bimbo, non sono epilessia, sono una sindrome, e si controllano con questo tipo di farmaci.

E' da sottolineare che le benzodiazepine sono farmaci attivi sul recettore GABAA. Di conseguenza, possono potenziare gli effetti di altre sostanze prese in concomitanza, quali i barbiturici, l'alccol e la morfina, o comunque farmaci che abbiano azione inibitoria sul SNC. L'associazione di inibitori con le benzodiazepine è quindi da evitare, poiché può portare anche ad arresto respiratorio.

L'effetto ansiolitico-sedativo è associato a riduzione delle capacità cognitive e psicomotorie.

L'ansia è una risposta comportamentale indotta da una condizione che può essere anche soltanto immaginaria, o può anche essere ambientale, “non necessariamente un bastone” (testuale, ndr). Induce effetti disinibitori sul comportamento, con perdita di autocontrollo, il che significa che la benzodiazepina è ansiolitica nel senso che porta a un'inibizione comportamentale, quindi l'effetto della condizione psichica piuttosto che reale scompaia grazie a una benzodiazepina, può favorire la perdita di controllo. (mi pare abbia detto questo, ma il senso credo sia semplicemente che la BDZ può portare alla perdita di controllo ndr).

Spesso dà amnesia anterograda, ovvero che non ci si ricorda che cosa è successo mentre si sta prendendo il farmaco. (riposrto un suo consiglio: se si ha ansia da esame, meglio prendersi a sberle o andarsi a prendere una pizza piuttosto che prendere BDZ)

L'ipnosi è un punto fondamentale. Le benzodiazepine, non solo inducono, ma anche alterano il sonno, prolungando la fase 2 (Nello *stadio 2* è presente una attività di fondo di voltaggio relativamente basso, con frequenza variabile ndr), riducendo, fino quasi ad eliminare, la fase REM (Rapid Eyes Movement).

Il sonno è composto da diversi cicli ripetuti, che prevedono la fase non REM a 4 stadi con EMG che registra onde cerebrali lente e una fase REM con EMG che registra onde cerebrali prossime o superiori a quelle della veglia. La fase REM è tipicamente la fase in cui si sogna. Il sonno sembra essere una fase decisiva di apprendimento, di cui non ci possiamo provare. Molti movimenti che facciamo nel sonno sembrano essere consolidamenti di quelli appresi da svegli.

Le benzodiazepine inducono e favoriscono (tramite il meccanismo di selezione in ingresso in fase 1) il sonno, allungano la fase non REM (particolarmente lo stadio 2) ma eliminiano quasi completamente la fase REM. Il problema è che la fase REM non è rinunciabile. Si elimina, ma si recupera dopo. Essenzialmente, facendo un esempio pratico, io con le benzodiazepine elimino gli incubi (eliminando la fase REM), ma una volta sospesa la terapia ho il cosiddetto “fenomeno del rimbalzo”, che prevede che la fase REM che non ho avuto, mi ritorni in eccesso. Quindi, se associata agli incubi, mi ritornano gli incubi. Quindi, se io tratto un ansioso (con BDZ), che tipicamente ha gli incubi, l'ansia in sé passa, ma gli incubi tornano. Bisogna quindi avvertire il paziente delle notti di terrore post trattamento.

L'attività anticonvulsivante è tipica delle benzodiazepine, poiché bloccano il meccanismo GABAergico. (non capivo bene cosa diceva, ma questo è il sunto ndr).

L'attività miorilassante (secondo lui, più leggenda che realtà) è esercitata per eccellenza dal curaro. Comunque, alcune benzodiazepine esaercitano il loro effettono inibitori a livello dei motoneuroni spinali. Ad alte concetrazioni hanno effetto diretto sulla trasmissione neuromuscolare, ma gli effetti sono più visibili su animali che su umani.

(slide 56 – 57)

Tolleranza e dipendenza da BDZ compaiono in concomitanza solo con dosaggi alti (vedi “fenomeno di rimbalzo”). Un paziente tollerante e dipendente, che prima non dormiva, non dormirà di nuovo dopo la sospensione della cura, poiché ci sarà sì mancanza di benzodiazepine e inoltre, molto peggio, il rimbalzo. Non è soltanto la mancanza di benzodiazepine, è qualcosa in più.

Il motivo dell'ansia e dell'insonnia sono scomparsi, ma i sintomi restano a usa della disintossicazione.

La tossicità, nonostante sia bassa, non va dimenticata. Ho uno stato di confusione che può arrivare all'atassia (problemi motori, passività muscolare). La coordinazione motoria peggiora ed è il motivo per cui chi prende benzodiazepine non può guidare. Apatia e debolezza sono classiche manifestazioni, così come lo è la sonnolenza. Negli anziani e nei bimbi possono insorgere sintomi opposti, ovvero gli stessi per cui si è cominciata la cura (incubi, ansia...). Inoltre disturba le capacità psicofisiche e intellettuali e la memoria a breve e lungo termine.

(slide 58 – 60)

Quindi le benzodiazepine si possono usare per i vari tipi di ansia, per l'insonnia generalizzata, attacchi di panico, agorafobia (specifica di alcune benzodiazepine), insonnia, convulsioni, rilasciamento muscolare. L'importante è quindi saper scegliere la benzodiazepina giusta per una data patologia, considerando anche l'emivita (farmacocinetica).

Il paziente in terapia con questi farmaci ha riflessi e capacità mnemoniche alterati. Queste condizioni persistono anche se il paziente non se ne accorge. Gli effetti collaterali sono subdoli.

Basti pensare al bicchiere di vino: noi non ce ne accorgiamo, ma i nostri riflessi sono alterati.

A causa della barriera medico paziente, le BDZ sono i farmaci peggio somministrati.

RECETTORI ACCOPPIATI A PROTEINE G

-

(Negli ultimi dieci minuti introduciamo la classe di recettori che saranno protagonisti della farmacologia delle prossime lezioni, cioé la farmacologia di base per il sistema cardiocircolatorio e

respiratirio, la “*farmacologia delle catecolamine*” (essenzialmente, si vedrà come i farmaci interferiscono con le funzioni vegetative).

Il recettore in questione è il recettore associato a proteine G (**GPCR**), ovvero recettori che trasducono il segnale generando secondi messaggeri. Sono centinaia questi recettori.

(slide 62)

Segue elenco delle molecole e dei recettori accoppiati a proteine G correlati – *(le ha citate più o meno tutte ndr).*

(slide 63)

Recettori accoppiati a proteine G generano un secondo messaggero.

Cosa significa?

Il **primo messaggio (ormone)** è quello mandato dall'altra cellula . Il recettore sente il segnale e deve informare l'interno della cellula attraverso una nuova sostanza da lui generata: il **secondo messagero**.

Nel caso del recettore-canale, il sistema si basava su passaggio di ioni, qui invece il sistema è più complesso perchè si genera un'altra sostanza (la quale informa).

Il secondo messaggio attiva una cascata enzimatica di attivazione multipla (ovvero, **amplificazione**).

Ci si chiede come il recettore produca il secondo messaggero, a che velocità, in che quantità e quanto a lungo, e quanto a lungo opera l'enzima attivato dalla via.

Ci si chiede lo stesso per quanto riguarda la chinasi e tutti gli enzimi della cascata.

Dal punto di vista farmacologico quotidiano, sappiamo che ciò ha diversi significati:

in particolari situazioni questo sistema genera un vero e proprio cambiamento cellulare, o proliferazione cellulare. E' un sistema amplificante, multifattoriale, con potenziali target a diversi livelli.

Finchè si ha secondo messaggero si ha effetto = per togliere questo effetto devo distruggere il secondo messaggero: per questo motivo, ho degli **enzimi che distruggono il secondo messaggero**.

Ad esempio, il *viagra* è un farmaco che impedisce la distruzione di quel secondo messaggero che è il cAMP che agisce soprattutto a livello di vasi venosi dei corpi cavernosi (anche del clitoride).

Una *molecola simile al viagra*, ma diversa, che agisce su un altro enzima, non presente nei corpi cavernosi ma presente sui vasi e sul cuore, è usato invece nell ipertensione polmonare.

Lezione di Farmacologia (sem1) del 8/11/2012 (1)

LEZIONE DI FARMACOLOGIA 8.11.2012 - PROF. FUMAGALLI

(S.: Claudia Pasquali – R.: Angela Serafin)

PARLIAMO DI **RECETTORI ACCOPPIATI A PROTEINE G** che sono una particolare classe di recettori il cui funzionamento è legato alla generazione di secondi messaggeri. Questi a loro volta si generano dalla modificazione di una qualche sostanza all'interno del citoplasma che traduce il segnale dato dal primo messaggero che è l'ormone, il neurotrasmettitore.

Una valanga di recettori per neurotrasmettitori appartengono a questa classe, ma non solo: anche ormoni peptidici tipo quelli di tipo ipofisario (ormone della crescita,ormone tireotropo), ormoni coinvolti nel metabolismo degli zuccheri (glucagone ad esempio), ormoni coinvolti nel controllo della pressione, vi appartengono. La stessa trombina, che conoscete come fattore della coagulazione,è mediatore di informazioni che lega un recettore accoppiato a proteine G; anche gli eicosainoidi (derivati dell'acido arachidonico) che mediano il processo infiammatorio, interagiscono con recettori di questa categoria, così come i fotoni.

Quindi abbiamo che l'attivazione del recettore da parte del primo messaggero, determina una cascata di reazioni legate all'attivazone della cosiddetta proteina G la quale a sua volta, produce un aumento della concentrazione di secondo messaggero, che è poi l' effettore; effettore tipicamente attraverso una serie di effettori che possono essere enzimi, canali ionici, proteine di complesso, per cui si genera un' amplificazione del segnale.

Mentre nei canali per neurotrasmettitori (come quello al gaba e quello nicotinico; *vedi lezione precedente),* dato il tempo di apertura sempre finito, e la limitata quantità di ioni che può passare attraverso il canale, perché dipende dalla conduttanza, che più di tanto non è modificabile, il segnale dal singolo canale è pressoché immodificabile e quindi per poter cambiare il potenziale di membrana si devono attivare in contemporanea svariati recettori (segnale quantitativo) , nel caso di recettori accoppiati a proteine G, teoricamente, anche l' attivazione di una singola molecola, col tempo, può determinare un accumulo di secondo messaggero in quantità tale da poter generare un effetto.

Inoltre pensiamo al concetto di "cascata": se osserviamo una cascata in montagna, vediamo che l' acqua "cade e smette di cadere" , però si vede che è caduta perché c'è ancora un polverone di acqua e detriti a valle, o ancora, quando fissate una luce e poi spostate lo sguardo, vi rimane per un po' una traccia negli occhi: il segnale persiste, in questi esempi come come nel caso dei nostri recettori.

La trasduzione del segnale quindi non è rapida, né breve come quella sinaptica, ma i segnali possono essere amplificati, modulati nel tempo, sia a livello di generazione di secondo messaggero, sia a livello di cascate successive, perché se il livello di secondo messaggero si attiva una protein chinasi e l'effetto biologico è dovuto alla chinasi che ha fosforilato il substrato, dato che il substrato è fosforilato, l'effetto biologico persiste, anche se magari il recettore non c'è più.

Vedremo perciò che accanto al sistema di generazione del segnale, esiste un sistema di spegnimento del segnale, un sistema di regolazione della concentrazione del secondo messaggero e un sistema, per esempio di fosfatasi, di regolazione dell'attività chinasica del secondo messaggero.

Esistono vari secondi messaggeri: noi vedremo soprattutto AMPc e calcio, daremo un'occhiata a IP3.

STRUTTURA DEI GPCR

Tutti i recettori accoppiati a G proteine hanno la comune caratteristica di essere fatti da una singola subunità, diciamo che il gene codifica per una proteina che attraversa sette volte la membrana (sono detti anche recettori a sette domini transmembrana) con una serie di tratti intracellulari e tratti extracellulari.

Generalmente i tratti intracellulari sono rilevanti per il riconoscimento e l' accoppiamento con proteina G, mentre il sito di legame dell'agonista varia a seconda dell'agonista stesso, ad esempio i fotoni legano una serie di amminoacidi situati nel loop intramembrana; il glutammato lega un enorme pezzo della porzione terminale extracellulare; la trombina che è l'enzima proteolitico che taglia il fibrinogeno per dar fibrina, taglia un pezzo extracellulare del recettore per poterlo attivare.

IL CICLO DELLE PROTEINE G

La proteina G, è chiamata così perché nel suo lavoro interviene il GTP. Di per sé per proteina G intendiamo un trimero costituito dalle subunità α, β, ï • §. Questo trimero nella cellula a riposo, in cui il recettore non è attivato, porta legato a sé un GDP: in queste condizioni il trimero è silente, inattivo. Quando l'agonista lega il recettore modifica la sua conformazione e espone un sito di legame per la proteina G, che si "aggancia" tramite la sua subunità α. Questa interzione con il recettore segnala alla proteina G di scambiare il GDP vecchio il il GTP nuovo. Il recettore è quindi un segnale di scambio che induce la proteina a rilasciare il vecchio GDP e legare il GTP.

Il legame con il GTP induce la subunità α a cambiare forma, la quale si disfa e non ha più rapporti con il complesso βï • §. A questo punto, sia la subunità α, sia il complesso βï • §, ma soprattutto la subunità α, sono capaci di interagire con degli effettori e indurre quindi l'inizio della cascata che porterà all'effetto biologico.

Nel caso dei recettori che utilizzano l'AMPc come secondo messaggero, la subunità α interagisce con un enzima chiamato adenilato ciclasi, lo attiva e gli fa produrre AMPc a partire dall' ATP. Questo segnale andrebbe avanti in eterno se non fosse che la subunità α, oltre ad esser un trasduttore (che traduce il segnale dal recettore attivato all'adenilato ciclasi) é anche una fosfatasi dotata di attività enzimatica capace di idrolizzare, distruggere il GTP tramite defosforilazione per riportarlo a GDP. Quando la subunità α si trova legata al GDP, torna a legare il complesso βï • § e il tutto torna silente.

La durata complessiva del segnale perciò, dipende da quanto è rapido il processo di defosforilazione, ossia da quanto è rapida la capacità GTPasica della proteina G. In questo ci sono notevoli variazioni: tanto più è potente l'attività GTPasica tanto più breve sarà il segnale e viceversa, il segnale può persistere anche per minuti.

Esistono varie famiglie di subunità α:

- α s : stimola l'adenilato ciclasi
- α i : inibisce adenilato ciclasi
- α q : il suo target è la fosfolipasi C (altro generatore di secondi messaggeri)
- α 12 (scoperta più di recente): il suo target è Rho GEF, generatore di segnali all'interno del nucleo,che va perciò ad agire sulla trascrizione genica.

Anche il complesso βï • § può interagire con ciclasi, fosfolipasi, canali al calcio, al potassio.

Vediamo quindi una grande complessità, varietà di target sia della subunità α, che del complesso βï • §, che van da enzimi a canali ionici.

Sapete tutti che quando vedete un film horror vi prende la tachicardia soprattutto se tornate a casa da soli, o se un/una ragazzo/a vi sorride vi prende la tachicardia, ma quando siete tranquilli e rilassati la tachicardia non c'è. Questo "gioco" dipende dal sistema nervoso vegetativo che agisce

tramite neurotrasmettitori: adrenalina che stimola, acetilcolina che rallenta. Entrambi questi sistemi lavorano con dei recettori accoppiati a proteina G.

E come modulo la frequenza?

Il recettore adrenergico per l'adrenalina attiva un canale ionico sensibile al recettore stesso o al secondo messaggero AMPc, e attraverso questa interazione modifica la sua funzione.

Al contrario il sistema parasimpatico che tende a rallentare la frequenza, deve iperpolarizzare le cellule che regolano la frequenza cardiaca, modulando la funzione di canali al potassio, anche qui direttamente attraverso l'uso di secondi messaggeri.

Sapete anche che quando vi arrabbiate date degli schiaffoni molto più violentemente di quando siete tranquilli e questo è perché quando siete arrabbiati oltre a comandare il muscolo, avete messo in giro tanta adrenalina che, aumentando la conduttanza dei canali al calcio a livello del muscolo scheletrico, ne rendono la contrazione più forte.

L' azione sui canali può essere diretta o indiretta, mediata da fosforilazioni.

Vediamo ora nel dettaglio, le azioni di alcuni secondi messaggeri:

AMPc

In tabella alcuni primi messaggeri che inducono la formazione di AMPc come secondo messaggero:

L' AMPc è un secondo messaggero che nasce dall' ATP, per azione dell'enzima adenilato ciclasi, la cui funzione è regolata dalle proteine G α (tipo "s" lo stimola, tipo "i" lo inibisce). I target dell' AMPc possono essere: enzimi (es proteinkinasi A, fosfatasi); canali (es Na f di cuore che regola frequenza); trascrizione genica (CREB). Questi sono eventi a breve termine, ma ci sono eventi anche a lungo termine: sapete che quando fate esercizio vi si gonfiano i muscoli, vi aumenta la frequenza cardiaca che significa che probabilmente avete messo in giro un po' di adrenalina. Quello che in realtà succede è che l'adrenalina agisce sul complesso sistema muscolare: il recettore muscolare per l'adrenalina, non solo regola le proprietà delle proteine canale facendo quindi contrarre più o meno il muscolo(adrenalina aumenta la forza di contrazione), ma allo stesso tempo manda segnali ai nuclei all'interno del muscolo per regolare la trascrizione genica.

La durata degli effetti dipende dai sistemi che riducono la concentrazione di AMPc, e questi sono degli enzimi chiamati fosfodiesterasi, oppure degli enzimi che contrastano gli effetti dell'attivazione degli enzimi.

Il target maggiore dell' AMPc è la **protein chinasi A (PKA),** un enzima fosforilante. Questo è un enzima particolare formato da una subunità regolatoria e una catalitica: l'interazione con AMPc stacca la subunità regolatoria dalla catalitica che è quindi libera e diventa l'enzima fosforilante.

Più c'è AMPc più PKA si attiva.

Quando fosfodiesterasi taglia l'AMPc, e lo ritrasforma in AMP 5'(toglie quindi la ciclizzazione) , il complesso diviene silente: PKA tace, ma rimane il target fosforilato: la sua azione viene spenta da fosfatasi.

Questo sistema è autoregolato: AMPc attiva PKA e inattiva la fosfatasi, quando l'AMPc diminuisce la PKA tace e la fosfatasi inizia la sua azione.

Questo è un sistema di bilanciamento, per cui ciò che uno fa, ha anche il mezzo di essere distrutto (??): l' AMPc infatti è regolatore di entrambi: positivo della chinasi e negativo della fosfatasi.

La durata dell'effetto è una miscela di quanto sono attivi e attivabili protein chinasi da un lato, e fosfatasi dall'altro. Ci si possono quindi aspettare delle disparità, da tessuto a tessuto, della durata dell'effetto (esempio: muscolatura liscia degli sfinteri capillari, cinetiche diverse rispetto a muscolatura liscia della vescica: funzionano con la stessa "macchina" recettori accoppiati a proteine G, ma con durata, effetti, funzioni che sono individuali di ciascun tessuto).

(L'AMPc ha una funzione molto importante nel sistema cardiovascolare, per questo è importante capirlo bene).

Abbiamo detto che l' AMPc aumenta in funzione del segnale per l'adenilato ciclasi, quindi è un secondo messaggero, però secondo messaggero dice anche che la sua funzione deve essere transitoria, e la sua concentrazione è ridotta infatti dalle fosfodiesterasi, la cui attività è essa stessa regolata da AMPc. Tanto più ce n'è tanta più fosfodiesterasi si attiva e viceversa.

Fosfodiesterasi è una famiglia di enzimi con distribuzioni differenti nei tessuti, con una serie di composti la cui funzione è legata proprio alla localizzazione tissutale e alla specificità, cioè la capacità di riconoscere una fosfodiesterasi piuttosto che un'altra: se un farmaco li riconosce tutti attiverà o inibirà tutti gli effetti dovuti all'attività delle fosfodiesterasi. Siccome sono enzimi ubiquitari, un farmaco non specifico agirebbe un po' ovunque e non sarebbe gradevole per il paziente ma nemmeno per il medico. Si è sviluppata una farmacologia selettiva:

- Milrione… : usato in scompenso cardiaco perché agisce su cellule muscolari lisce.
- (non capisco il nome)…uso limitato ancora, è nelle ultime fasi di sperimentazione clinica; usato nella broncopatia cronico ostruttiva, in quanto agisce sulla fosfodiesterasi di tipo 4 che è localizzata prevalentemente a livello bronchiale e polmonare, per cui si hanno effetti di bronco e vasodilatazione quasi esclusivamente nell'ambito polmonare.

IP3 (inositolo trifosfato)

L' IP3 è un inositolo, che è uno zucchero, e quindi è idrosolubile, però è attaccato alla membrana perché è legato al diacilglicerolo, che è un acido grasso e quindi è situato dentro alle membrane. Le membrane sono fatte di grassi, quindi niente che sia idrofilo si trova al loro interno, né passa attraverso esse: l'inositolo ha questa localizzazione perché è legato alla coda di diacilglicerolo che sporge all'interno della membrana. Questa coda viene tagliata da un enzima chiamato **fosfolipasi C**, la quale scinde l'inositolo 1,4,5 (un particolare tipo di inositolo)dal diacilglicerolo, liberando da una parte l'inositolo e dall'altra il diacilglicerolo.

Entrambi sono secondi messaggeri.

Il **diaciglicerolo** lavora soprattutto all' interno della membrana, e il suo target principale è la **protein chinasi C** (detta "C" perché è anche attivabile dal calcio), da notare che il diacilglicerolo si può formare da più tipidi fosfolipasi, non solo dalla C, *(ma il profe dice di tralsciar questa complicazione*).

L'**inositolo** è uno zucchero con dei residui carichi di fosfato, quindi è idrofilo e nel citoplasma si scioglie benissimo; prima era in membrana, adesso scivola via e entra nel citoplasma.

Possiamo dire che c'è stato un segnale che ha attivato il recettore di membrana, che quindi ha rilasciato l' inositolo: il segnale di superficie sta diventando un segnale intracellulare.

Il maggiore effetto biologico dell'inositolo è quello di attivare un particolare tipo di **canali al calcio dipendenti dal secondo messaggero presenti delle cisterne intracellulari che accumulano il calcio**. Stimolato dal secondo messaggero (IP3), questo canale si apre, e il calcio è libero di fuoriuscire dalla cisterna e invadere il citoplasma: è quindi un modo un pochettino indiretto di regolare la concentrazione di calcio intracellulare, però non è tanto il fatto che sia indiretto a essere interessante, ma la strategia. Infatti, queste vescicole contenenti calcio si trovano un po' dappertutto nella cellula; la domande è: se la cellula vuole aumentare la sua concentrazione di calcio nell'angolino in basso e non nell'angolo in alto, come farebbe se l'unico segnale di regolazione del calcio fosse un segnale di membrana che là rimane? Dovrebbe riempire tutto il citoplasma di calcio per far aumentar il calcio nella porzione desiderata, invece in questo modo, il secondo messaggero diffonde all'interno della cellula e genera un segnale solo laddove la cellula è preparata per rispondere.

Il profe dice di essere andato veloce sull'IP3 perché quello che ci interessa veramente è il meccanismo di regolazione di concentrazione del calcio.

Calcio

Il calcio è anch'esso un secondo messaggero. A differenza del sodio e del potassio che sono fondamentali regolatori della differenza di potenziale transmembrana, il calcio dal punto di vista elettrico è un soggetto passivo, che segue i gradienti, ma essendo poco ha poco significato come regolatore di cariche elettriche.

Un secondo messaggero è una sostanza che a riposo è presente in basse concentrazioni, e aumenta quando il recettore è attivato e poi quando il recettore è silente ritorna a basse concentrazioni. Quindi se il calcio è un secondo messaggero deve avere queste proprietà, e poi avrà anche i suoi effettori.

Innanzitutto parliamo della concentrazione di calcio:

- extracellulare: 0,5 - 2mM. Di questo calcio extracellulare, una parte è complessato con proteine (di trasporto o di altro tipo, in circolo si trova anche legato ai globuli rossi), e tra 0,5 e 1 mM è invece libero.
- intracellulare: 0,5 mM circa, quindi non è molto diversa da quella che c'è all'esterno. Anche qui bisogna distinguere tra calcio libero e calcio complessato, perché è quello libero che può effettivamente svolgere le sue funzioni (*da qui in avanti quando si parlera di calcio intracellulare ci si riferirà solo al calcio libero*). Calcio libero intracellulare è compreso tra 20 e 100 nM, il che sigifica che la concentrazione del calcio libero intracellulare è 10000 volte più bassa di quella del calcio libero extracellulare: c' è un enorme gradiente di calcio (10 -7 dentro, 10 -3 fuori).

La cellula ha tre meccanismi per far in modo che la concentrazione di calcio al suo interno sia così bassa:

- Buttarlo fuori, estruderlo
- Nasconderlo, sequestrarlo all'interno di compartimenti intracellulari, quali vescicole, cisterne, mitocondri.
- Proteine tampone che legano il calcio, impedendone il funzionamento (è un meccanismo un po' passivo questo. La capacità tampone è fissa, perché dipende dalle proteine che la cellula fabbrica.)

Aumentare il calcio è molto più semplice, visto l'enorme gradiente presente:

- Apro canali sulla membrana esterna, permetto l'influsso di calcio all'interno della cellula.
- Apro canali sulle cisterne intracellulare

Quindi i meccanismi di regolazione veri del calcio sono: estrusione e sequestro (tamponamento è fisso, perciò non conta più di tanto) e regolazione canali al calcio.

ESTRUSIONE E SEQUESTRO

I due termini indicano la stessa cosa, fatta o a livello della membrana cellulare o a livello della membrana degli organelli. Esistono:

- Pompe, che usano ATP
- Trasportatori, che non usano ATP, ma sfruttano l'energia generata da altri sistemi.

Le POMPE AL CALCIO, legano il calcio dal lato in cui si trovano e poi bruciando ATP, lo rilasciano nell'altro lato. La Pompa Na/k funziona come queste, estrude sodio e fa entrare potassio (controgradiente) e per farlo sfrutta l'energia derivata dall'idrolisi dell'ATP.

La pompa al calcio prende il calcio dove ce n'è poco e lo "butta" dove ce n'è molto: funziona quindi contro gradiente chimico, talvolta anche elettrico, ma sicuramente chimico e per contrastar questo gradiente deve sfruttare l'energia dell'ATP.

Queste pompe possono essere localizzate sulla membrana cellulare o sulla membrana di organelli. La più famosa, perché la più abbondante e quindi la più studiata, è quella che si trova sul reticolo sarcoplasmatico delle cellule muscolari striate, detta **SERCA**.

Le SERCA sono una famiglia di pompe localizzate sulla membrana del reticolo sarcoplasmatico. Ci sono diversi componenti: la farmacologia di queste pompe è molto ricca a livello sperimentale, ma non ancora "attiva" in ambito clinico.

I TRASPORTATORI sono grandi proteine di trasporto (*vedrete quando studierete i diuretici l'importanza di queste proteine, su cui appunto, agisce questa classe di farmaci*)

Come i mulini usano l'energia dell'acqua per muovere la ruota x tritare il grano, queste proteine usano l'energia di un gradiente ionico per spostare un altro ione. Quindi se c'è tanto sodio all'esterno e poco all' interno, questo sodio cerca di entrare nella cellula, richiamato anche dal fatto che la sua carica è positiva , mentre l'interno della cellula è negativo; questa energia elettrochimica del sodio è sfruttata dal trasportatore per estrudere calcio.

(ricordare che il gradiente elettrochimico influenza la concentrazione del calcio, sarà importate quando parleremo di infarto..)

Pompe e trasportatori funzionano allo stesso modo?

No. Facciamo un banale esempio: vi si è allagata la cantina. Avete due modi per liberarla dall'acqua: aspirare l'acqua con una pompa o asciugarla con uno straccio. Piuttosto che dire "o" si può dire "e": ovviamente non iniziate con lo straccio, ma usate un intervento "d'urto" chiamate i pompieri, fate loro aspirar l'acqua con una pompa e poi passerete lo straccio per asciugare per bene. Cosa significa? Significa che la pompa dei pompieri, ossia il nostro trasportatore, fa il lavoro più grosso, ma non lo fa in modo accurato, mentre lo straccio, ossia le nostre pompe ATPasi , svolgono il lavoro più fine, di precisione. Quindi, quando il calcio aumenta molto, la prima "grossa ripulita" è fatta con gli scambiatori che seguono il gradiente elettrochimico (sfruttando l' energia ambientale fornita da altri ioni), e abbassano molto, ma non abbastanza la concentrazione di calcio, poi intervengono le pompe che regolano finemente i livelli di calcio. Trasportatori e pompe funzionano perciò in momenti quasi coincidenti, ma leggermente diversi.

Essi possono buttar calcio fuori dalla cellula o confinarlo all'interno degli organelli. Ricordate tuttavia, che la natura "è organizzata al risparmio" e quindi al riutilizzo: le cellule preferiscono sequestrar il calcio piuttosto che perderlo buttandolo fuori.

C' è un enorme gradiente, sia tra citoplasma ed esterno che tra citoplasma e organelli (mitocondri, reticolo, Golgi, cisterne intracellulari): il mondo della cellula è fatto di esterno e di ultrainterno (all'interno dell'interno, cioè all'interno delle strutture intracellulari); esterno e strutture intracellulari si assomigliano molto, è il citoplasma a essere diverso. La concentrazione di calcio all'esterno o all'interno dell'interno è 10000 volte maggiore rispetto all'interno (citoplasma), perciò la regolazione del calcio è banale: basta aprire dei canali, e poi il movimento del calcio avverrà secondo gradiente. Come posso aprire i canali?

- In **funzione del voltaggio**: canali posti sulla membrana che sentono la differenza di potenziale, quando il potenziale transmembrana non è più quello di riposo, il canale si apre e il calcio entra. Questo è il tipico effetto che si ha nelle cellule eccitabili: in una sinapsi si depolarizzano le membrane, si aprono i canali al calcio voltaggio dipendenti e si ha il rilascio del calcio. L' aumento della concentrazione dello ione, permette la fusione delle vescicole, che liberano il neurotrasmettitore; in un muscolo scheletrico arriva un segnale, la membrana si depolarizza, il canale si apre e questo induce, in un modo un pochino di complesso di quanto possa sembrare, un aumento del calcio intracellulare, legato quindi alla "sensazione di voltaggio", cioè c'è un sensore di voltaggio su questi canali che consente la loro apertura e la loro chiusura.
- **Tramite recettori**, o se preferite, tramite neurotrasmettitori. Ad esempio: i canali dell'aceticolina che fan passare fondamentalmente sodio, potassio e un pochino di calcio; i canali del GABA che fan passare fondamentalmente cloro. Ci sono poi recettori canale che fan passare fondamentalmente calcio, il più famoso è un recettore del glutammato, il recettore NMDA, coinvolto negli eventi di plasticità sinaptica.; ma c'è anche un recettore per la glicina, che insieme al glutammato fa passar calcio dal canale.
- **Mediante proteine G**.
- **Tramite secondo messaggero**. Per esempio l'IP3: recettore accoppiato a proteina G attiva la PLC, questa va a formare il secondo messaggero IP3, che diffonde nella cellula, incontra un recettore sulla membrana di organelli intracellulari e legandolo, induce l'apertura di canali al calcio. Il calcio fuoriuscito rientrerà poi nella cisterna, perché sulla sua membrana è presente una SERCA, che ripulisce il citoplasma dal calcio. La risposta è quindi di tipo transitorio e inoltre dipende dalla sensibilità dell'organello sia all'IP3 che al calcio.
- Il calcio intracellulare aumenta perché immesso dall'esterno o/e perché rilasciato dagli organelli, questo aumento del calcio può andare ad aprire anche dei canali al calcio dipendenti dal calcio stesso, favorendo ancor di più l'aumento della concentrazione di calcio intracellulare. Si parla di **calcium-induced-calcium-release.**

Facciamo un esempio musicale: esiste lo strumento, esiste il pre-amplificatore che prende il segnale dallo strumento e lo manda agli amplificatori. Il preamplificatore ha un'uscita scarsa, non sarebbe in grado di far vibrare bene le casse, la cui vibrazione necessita di potenza, e la potenza è data dall'amplificatore. Quindi sulla membrana abbiamo lo strumento, cioè il recettore che riceve un segnale che attiva l'IP3, questo va al preamplificatore, che sono le piccole vescicole contenenti calcio sparse nel citoplasma, l'apertura dei loro canali permette un aumento locale del calcio, ossia nelle immediate vicinanze dell'organello, ma è possibile che sia anche a solo qualche micron dalla membrana da cui tutto è iniziato. Questo aumento locale del calcio attiva cisterne dotate di canali calcio dipendenti, e quindi io ho un aumento notevole di calcio in punti discreti della cellula.

Questi canali dipendenti dal calcio sono sensibili a particolari classi di farmaci: in laboratorio si usano per bloccarli in modo da capire se l'aumento di calcio intracellulare è dovuto all'influsso o all'attivazione di cisterne.

Il calcio aumentato sarà poi estruso o riconfinato nelle cisterne, consumando ATP.

Il calcio è un secondo messaggero:

- Induce la risposta biologica in canali calcio dipendenti (calcium induced calcium release)
- Le risposte maggiori al calcio sono però dovute **all'attivazione di chinasi**. Diverse proteine legano il calcio e, o sono loro stesse delle chinasi, o sono degli adattatori per permettere il funzionamento delle chinasi. Il più famoso di questi adattatori si chiama **calmodulina.** Essa è una proteina che "sente" il calcio che quando è legata a quattro atomi di calcio, attiva la sua chinasi, chiamata chinasi calcio/calmodulina dipendente. Il risultato è la fosforilazione di substrati: ma ricordate che la fosforilazione non è un evento che capita dove capita. Essa è possibile solo sugli amminoacidi che presentano un residuo OH, che sono serina, treonina e tirosina. Inoltre le chinasi fosforilano questi amminoacidi a livello di sequenze specifiche. Quindi la fosforilazione è un evento altamente selettivo.

Che cosa induce o lo ione calcio di per sé o lo ione calcio che ha indotto una fosforilazione?

- Contrazione, twitch nelle cellule muscolari e striate e lisce.
- Secrezione
- Trascrizione genica

Il calcio è l'elemento che determina la contrazione, se non c'è calcio nella cellula, sia essa striata di muscolo scheletrico o cardiaco, liscia delle arteriole o della vescica, la cellula non si contrae, se invece il calcio è presente la cellula si contrae. Cosa significa che si contrae?

Il profe mostra un filmato della contrazione nel muscolo scheletrico: Il calcio entra nella cellula e lega la troponina C, la quale cambia conformazione e espone l'actina, permettendone il legame con la miosina. L'actina attiva la miosina che idrolizza l'ATP.

Quindi il calcio è, nel muscolo scheletrico, un regolatore dello stato della troponina C, e quindi della possibilità di esporre l'actina e di mostrarla alla miosina. L'interazione actina miosina permette l'idrolisi dell'ATP, questa idrolisi fa piegare la testa della miosina e perciò fa scivolare il avanti il fascio muscolare.

Nella cellula muscolare liscia succede qualcosa di analogo per quanto riguarda il movimento, però la situazione è diversa perché qui non è l' actina ad essere nascosta, ma la testa della miosina che non è attiva. Essa necessita di una fosforilazione a livello della catena leggera per poter funzionare.

Ecco che nel muscolo scheletrico il calcio è solo un fattore sterico, che al suo arrivo scopre uno dei due "amanti" permettendone l'interazione, mentre nel muscolo liscio abbiamo "un matrimonio su procura": di per sé la miosina e l'actina non interagirebbero, però l'azione di una chinasi sulla miosina, la "convince" a legarsi all'actina e abbiamo la contrazione muscolare.

Perciò i due tipi di muscolo hanno la stessa strategia di movimento, legata all'ATPasi della miosina, ma diversa strategia per indurlo: da una parte abbiamo l'azione diretta del calcio, dall'altra una fosforilazione indotta dal calcio. Il calcio è sempre e comunque l'elemento iniziatore.

Contrazione della cellula muscolare liscia è un evento tonico, con cinetica lenta, progressiva seguita da un rilassamento.

Fermiamoci sul muscolo scheletrico. L' aumento di calcio avviene <u>tutto dalle cisterne</u>: infatti se in laboratorio mettete un preparato muscolare a bagno in un preparato privo di calcio, il muscolo si contrae comunque, proprio perché per farlo non ha bisogno di calcio proveniente dall'esterno.

Il rilascio di calcio avviene per il 95% dall'interno, è una strategia che permette alla cellula muscolare, che è grossa (diametro di 100-150 micron), di contrarsi simultaneamente sia al centro che fuori. Il segnale per attivare le cisterne, che sono messe in registro con le fibre, è dato dalla depolarizzazione che si ha lungo la membrana, membrana che si introflette a formare i tubuli T che, con le cisterne, da un lato e dall'altro, formano le triadi.

Nei tubuli T, oltre ai canali al sodio,che sono quelli che permettono alla depolarizzazione di viaggiare, troviamo canali al calcio voltaggio dipendenti che sono fisicamente legati a dei canali al calcio attivati dal calcio stesso. La depolarizzazione di membrana apre i canali al calcio voltaggio dipendenti sulla membrana delle cisterne, i quali a loro volta inducono l'apertura di canali al calcio dipendenti dal calcio stesso presenti sul reticolo. Tanto più calcio esce tanto più è probabile che si realizzi contrazione muscolare, e tante più miofibrille si possono attivare (con un aumento della forza di contrazione).

Esempio: vogliamo dare un pugno ad una persona: se lo diamo da tranquilli, il nostro pugno assomiglierà ad una carezza, se siamo veramente arrabbiati, invece, faremo male a quella persona. Dal punto di vista cerebrale il numero di fibre attivate è lo stesso, quello che cambia è la forza, perché quando si è tranquilli si raggiungono certi livelli di calcio, quando si è arrabbiati si raggiungono livelli di calcio maggiori.

Il tutto poi ritorna in rilassamento perché le SERCA delle cisterne "risucchiano" il calcio al loro interno.

Nel <u>muscolo cardiaco</u> la situazione è analoga, quello che manca è la precisa interazione tra membrana cellulare e membrana del reticolo e inoltre, nel muscolo cardiaco è molto importante anche l'influsso di calcio dall'esterno. Inoltre il diametro delle cellule cardiache è di circa 20 micron, molto minore di quelle scheletriche.

<u>Cosa succede se i livelli di calcio non scendono?</u>

Se la concentrazione di calcio rimane elevata, il muscolo rimane contratto. Fintanto che permangono alti livelli di calcio, il muscolo mantiene la contrazione (tetano).

Siamo noi, a livello centrale, a decidere quanto vogliamo mantenere la contrazione. Però, dopo grandi sforzi muscolari la contrazione di calcio potrebbe rimanere elevata indipendentemente dalla nostra volontà e perciò si verificano contratture muscolari, o peggio, crampi.

L'infarto è un crampo del muscolo cardiaco.

Perchè una cellula striata non si rilascia? Perché il calcio è rimasto a livelli elevati.

Perché è rimasto a livelli elevati? Perché la pompa non lo ha ricaptato.

Perché non lo ha ricaptato? Perché per funzionare la pompa ha bisogno di ATP. E per produrre ATP la cellula ha bisogno di ossigeno, zuccheri. Se ho poco ossigeno, metto in difficoltà la pompa che consuma ATP, impedendone il normale funzionamento. Ecco che i livelli di calcio rimangono elevati all'interno della cellula e il muscolo rimane contratto.

Se ho poco ATP, anche la pompa Na/K ATPasi non funziona, e se questa non funziona, il sodio all'interno della cellula è aumentato e quindi lo scambiatore del calcio che sfrutta il gradiente elettrochimico generato dal sodio, funzionerà poco.

In mancanza di ossigenazione manca energia per spostar ioni vari, manca energia per spostare il calcio e quindi ho un accumulo di calcio all'interno della cellula. Ciò impedisce al muscolo di rilassarsi e perciò si verifica un crampo che può riguardar l'intero muscolo o fascetti di muscoli, perciò si passa dal crampo alla contrattura. Si ha contrattura quando l'intero muscolo è rilassato, ma c'è quel fascio indurito,dolente facile da sentire quando si massaggia (sembra una corda tesa).

Anche il rilascio di neurotrasmettitori è molto sensibile al calcio. Le proteine che regolano la trasmissione sinaptica sono calcio dipendenti. Quindi la depolarizzazione del terminale sinaptico è per far entrare calcio, se i suoi livelli aumentano abbastanza, la cellula rilascia neurotrasmettitore.

Il SNC a riposo consuma il 70% dell'energia che riceve per far funzionare la pompa Na/K ATPasi, fondamentale per mantenere il potenziale di membrana (sodio fuori e potassio dentro). Se viene a mancare questo gradiente, gli scambiatori e le pompe al calcio non funzionano più: ecco che si se ha un'ischemia, i livelli di calcio rimangono elevati e quel territorio continua a rilasciare neurotrasmettitori: il circuito non è più funzionante.

A seconda dei livelli di calcio abbiamo risposte centrali diverse: convulsione (alti livelli di calcio); svenimento (altissimi livelli di calcio); e quando i livelli di calcio sono estremi si ha l' attivazione di proteasi, lipasi e dnasi che portano alla morte della cellula (naturalmente sono enzimi finemente regolati).

Concludendo, l'infarto, sia esso cardiaco o cerebrale, è dovuto a un problema di concentrazione del calcio intracellulare.

Lezione di Farmacologia (sem1) del 15/11/2012 (1)

Sbobina 15/11/12 Fumagalli.

Sbobinatore Sgarabotto Luca

Revisore Sartori Alessandra

(ultime diapositive della lezione 2: Signal-trasduction)

Vi avevo detto come mancanza di energia, ossigeno-ATP, non consente il funzionamento delle pompe che spostano ioni, e la mancata produzione di gradienti ionici o la ridotta presenza di gradienti ionici impedisce poi il lavoro dei trasportatori; di conseguenza poi la mancanza di ATP si traduce in uno scarso funzionamento della pompa Na/K ATPasi e in uno scarso funzionamento di conseguenza del co-trasportatore Sodio/Calcio.

Inoltre, la mancanza di ATP compromette la funzione della pompa che trasporta calcio fuori dalla cellula o lo sequestra all'interno egli organelli.

Cosa succede quando questo avviene? La cellula oltre al meccanismo di funzionamento tale per cui le concentrazioni di Calcio sono nette sia nel senso di aumento, quindi c'è una **risposta concentrazione dipendente**, ma per moltissimi enzimi e reazioni si è visto che la risposta è anche **frequenza dipendente** quindi dipende anche da quanto a lungo e quanto ripetutamente la concentrazione di calcio è portata a un certo livello. In particolare quando i livelli sono superiori al Micro-molare e quando questo persiste per un tempo eccessivo, quindi al di sopra del secondo, questo può corrispondere all'attivazione di una serie di enzimi citoplasmatici normalmente o silenti o usati in modo molto locale. Questo porta all'autodigestione mediata da enzimi litici come: lipasi, proteasi e altri tipi di enzimi che hanno un significato litico per la cellula.

L'aumento del calcio intracellulare sostenuto è uno dei meccanismi di morte cellulare, ma non è l'unico.

Per cui, visto dalla parte del muscolo si va ad una contrattura fino alla vera e propria morte del tessuto e del sua sostituzione con recesso (?). A parte per alcuni muscoli che non possono stare fermi come il cuore,in cui si va ad una contrattura che si chiama ischemia e quindi o angina o infarto e da parte del cervello, si può dire ictus, questa può essere permanente, transitoria o può avere delle manifestazioni cliniche che farete nel corso di neurologia; alla base c'è sempre lo stesso meccanismo:

-carenza di ossigeno,

- mancanza di funzionamento delle pompe,

-accumulo di ATP*(?penso volesse dire carenza, ndr).*

Nel sistema nervoso centrale l'aumento del calcio non è come nel muscolo(dove viene letto come contrattura e poi come morte del tessuto), nel cervello viene letto prima come rilascio di neurotrasmettitori e poi come morte delle cellule. Il rilascio di neurotrasmettitori non controllato è

alla base o della perdita di coscienza o delle sindromi epilettiche che si rifanno(?) a problemi irroratori del cervello.

C'è un punto su cui mi focalizzo adesso che è di base per la farmacologia del sistema cardiovascolare che è il ruolo di secondi messaggeri diversi nella contrazione.

Nel sistema cardiovascolare chi si contrae è:

-il cuore da un lato

-le arteriole e gli sfinteri che regolano quanto sangue deve andare in un distretto capillare

-le vene che devono definire quanto sangue deve ritornare al cuore, il cosi detto ritorno venoso.

Sono due i grandi secondi messaggeri di interesse: l'**AMPciclico** e il **Ca**, ci sarebbe anche l'IP3, ma questo funziona facendo aumentare il Calcio.

Il **Calcio** attiva la contrazione, nel muscolo scheletrico lo fa spostando la Troponina C dall'actina permettendo l'interazione con la miosina; come si era visto nel filmino proiettato.

Mentre nel muscolo liscio ha un'organizzazione diversa; non c'è l'organizzazione in registro, quindi non ci sono le strie, ma soprattutto l'actina e sopratutto la miosina è fatta in modo diverso, in particolare la miosina per contrarsi dev'essere fosforilata in un punto specifico della sua catena leggera. A fare questo lavoro di fosforilazione è una chinasi che la "Chinasi della catena leggera della miosina". Quindi molto diverso dal muscolo scheletrico dove la miosina è pronta per interagire e non interagisce perchè l'actina è coperta, qui invece si richiede un'attività enzimatica e questo giustifica il tipo di contrazione tipica della muscolatura liscia che non è una contrazione rapida e improvvisa come nel muscolo scheletrico o come nel cuore, ma è una contrazione tonica che aumenta e si riduce in modo progressivo. Quindi bisogna fosforilare la catena leggera della miosina e lo fa la miosina chinasi catena leggera e lo fa quando è attivata da una proteina che lega il calcio che si chiama Calmodulina. Per cui abbiamo che il calcio lega la calmodulina che attiva la chinasi della catena leggera della miosina e, in fine, la miosina chinasi catena leggera del va a fosforilare la catena leggera della miosina. Che sia calcio entrato da un canale o che sia calcio che si è liberato da uno store intracellulare o via calcium induced calcium release, comunque calcio che attiva la calcmodulina, che attiva la chinasi catena leggera della miosina che fosforila la miosina e che quindi si contrae.

Quindi questo è il cammino di contrazione della cellula muscolare liscia.

L'**AMPciclico** attiva la Proteina Chinasi A e la PKA fosforila la catena leggera della miosina in un punto diverso da quello della Calmodulina e quindi impedisce l'interazione tra Calmodulina e Chinasi. Quindi la fosforilazione indotta dalla PKA se lo fate da un punto di reazione della proteina in pratica significa che la chinasi viene zittita, non funziona. Se non funziona la superficie non si contrae e questo si traduce in rilassamento. Quindi quando si vuole costringere un vaso aumenta il calcio, se invece si vuole dilatare il vaso, aumenta l'AMPciclico.

Questi sono i due grandi segnalatori: calcio per contrarre, AMPciclico per dilatare. Questo vale per tutte le muscolature lisce: vale sui bronchi, sull'intestino e sulla vescica. Il funzionamento della muscolatura liscia dipende da questi due secondi messaggeri.

Quello che succede in una cellula muscolare striata è diverso, qui il Calcio fa contrarre, quindi fa sempre la stessa cosa. La Proteina Chinasi A, che è attivata dall'AMPciclico, va a fosforilare dei canali del Calcio voltaggio dipendenti e questi quando sono fosforilati funzionano di più, sono più permeati dal Calcio. Quindi l'AMPciclico nel muscolo scheletrico induce un potenziamento della contrazione e quindi queste due situazioni diverse dell'aAMPciclico a seconda del tipo di tessuto:

-muscolatura liscia si ha rilassamento

-muscolatura striata, potenziamento della contrazione

La contrazione parte solo se c'è calcio, quello che l'AMPciclico fa nel muscolo striato è di aumentare il Calcio e quindi di aumentare la forza di contrazione.

Nel cuore ci sono tutta una serie di recettori per l'adrenalina che aumentano l'AMPciclico e nel cuore quello che si provoca è un aumento della forza di contrazione. Aumenta anche la frequenza poichè l'AMPciclico svolge anche un'azione diretta su un particolare tipo di canale.

Oltre a Calcio, AMPciclico e IP3 esistono tante altre modificazioni costituzionali per aumentare , chi è interessato se le va a guardare; non pensiate che la stimolazione di un recettore accoppiato a un recettore a G proteina equivalga ad un evento enzimatico immediato e breve. L'attivazione di questi recettori è accoppiata alla generazione di segnali che vanno a finire nel nucleo e che modificano la trascrizione genica. A furia di muoversi, di essere agitato e di essere isterico,magari si diventa magri ma si diventa anche muscolari, questo è l'effetto ce il sistema adrenergico e l'adrenalina hanno sul muscolo.

(Avete mai sentito parlare di bistecche agli estrogeni? qualche anno fa per ingrassare i vitelli e manzi al macello quello che facevano era dargli una bella bersagliata di estrogeni e come le ragazze sanno gli estrogeni gonfiano. Vero, fa pesare di più il vitello ma quello che è venuto fuori era che c'erano bambine di 4 anni che avevano il menarca, la prima mestruazione, è stato un problema soprattutto negli U.S.A. (negli anni 70)che hanno attivato un sistema veterinario molto atteno che valuta bene la qualità della carne nel senso di qualità tossicologica quindi di carni che non contengano farmaci od ormoni che possano essere dannosi per la salute. Una ventina di anni fa questa storia degli estrogeni finisce per i fatti propri o quasi ed è sembrato un merito degli allevatori, poi ci si è resi conto che c'erano 2 farmaci che avevano avuto un picco di vendita incredibile ed era l'acquisto di netto da parte dell'industria; quindi si è scoperto che c'erano 2 metodi per far ingrassare i vitelli che non avevano niente che fare con gli estrogeni: dal punto di vista nostro della salute benissimo, dal punto di vista della correttezza mica tanto. Un modo è l'embuterolo che è un agonista beta dell'adrenalina, un farmaco che fa fare al muscolo quello che gli fa fare l'adrenalina e il muscolo ha una spiccata attività nel far proliferare le cellule del muscolo, nel farle diventare più grosse; lo usano per i vitelli e lo hanno usato nel mondo dello sport a tutto spiano fintanto che è stato inserito nella lista vietata delle sostanze. L'altra strategia per far ingrassare i vitelli era quella di dare penicilline e antibiotici di quella classe a bassissime dosi che per qualche oscuro meccanismo corrisponde alla crescita dell'animale; quest'ultima è un po' pericolosa perché sta portando a un problema di resistenza batterica di campo, che è un grave problema tossicologico che stanno vivendo gli stati uniti (si rischiano di trovare batteri penicillina resistenti oltre che in ospedale anche in mezzo alle campagne).)

Ultima cosa è la capacità dei recettori di adattarsi alla stimolazione, ed è quello che va sotto il nome di "**desensitizzazione**" del recettore, causata dall'eccesso di stimolazione, e l'abbiamo visto bene con il recettore nicotinico, e abbiamo accennato anche al meccanismo di "Down-Regulation", che non è un meccanismo che avviene nelle sinapsi, ma è un meccanismo che avviene per i recettori sparsi sulla superficie della cellula.

È pressapoco lo stesso meccanismo, la differenza fondamentale di questi meccanismo è che Down-Regulation significa riduzione del numero di recettori e questo meccanismo della down regulation non riguarda i recettori presenti sulle sinapsi. Ricordatevi che i recettori per neurotrasmettitori, per ormoni, per prostanoidi per neuropeptidi etc. non sono sinaptici, ma sono esibiti dappertutto e questo meccanismo che è basato su tutta una serie di segnali che accompagnano la generazione del secondo messaggero sono meccanismi di internalizzazione e il recettore viene riportato all'interno della cellula e poi viene o degradato o rimesso sulla superficie della cellula. Noi sappiamo che in genere una cellula su 100 recettori 10 li esprime in superficie e gli altri 90 li trattiene all'interno della cellula. La maggior parte dei recettori per neurotrasmettitori sono quindi presenti in pool intracellulare e sono li pronti per essere esposti o rimessi. Sono attivi chiaramente solo quando sono in superficie poichè i neurotrasmettitori agiscono solo sulla superficie della cellula. Questi dunque sono fenomeni di adattamento che in alcuni casi necessitano di un'attenzione perchè portano ad un variato equilibrio del sistema: dalle crisi di astinenza del tossicodipendente fino agli attacchi di panico e di ansia di chi prende le benzodiazepine per lungo tempo.

LEZIONE 3

FARMACOLOGIA DEL SISTEMA NERVOSO AUTONOMO SIMPATICO

Passiamo ad un altro argomento (mostra l'immagine della paura e dell'ansia) sono due situazioni in cui il nostro organismo è chiamato a rispondere con una reazione di massa, quella che si chiama tipicamente "lotta e fuga". La situazione di paura è tipica del mondo animale ed è alla base della capacità dell'animale di vincere o scappare la lotta per la sopravvivenza. Chi è più forte sopravvive e mangia e noi siamo parte di questo sistema di lotta e fuga. Questo non è altro che l'eccesso di quello che normalmente noi proviamo. (fa un paio di esempi su film di Hitchcock e reazioni di paura) Le reazioni fisiche associate alla paura sono la tachicardia, il tremore, il pallore, l'orripilazione pilifera. Anche il solo fatto di correre, parlare e muoversi e avere ossigeno e sangue che deve andare al distretto muscolare, necessita di un cuore che pompa più forte. Quindi la reazione di lotta e fuga non è diversa dal processo di accomodamento,comprende una serie di reazioni fisiologiche stereotipate che si attivano in situazioni in un certo senso diverse come buttare un sasso o "fare la barca" (????!). Queste reazioni ci sono sempre, in piccolo: il cuore e la frequenza si adatta come la sudorazione, la vasodilatazione cutanea da caldo aiuta a disperdere calore, mentre la vasocostrizione da freddo aiuta a trattenerlo. I meccanismi sono sempre gli stessi, quello che cambia è la quantità con cui questi sono reclutati che varia. Al 99% questi meccanismi e queste strutture biologiche funzionano adagio e sono alla base della nostra capacità di adattarci alle diverse situazioni.

LE BASI ANATOMICHE DEL SISTEMA NERVOSO AUTONOMO

Quello che adatta tutte le nostre attività viscerali, quindi non cognitive è il cosiddetto Sistema Autonomo, si chiama autonomo perché nei soggetti che vengono decerebrati queste attività permangono, possono anche vivere, senza attività cognitiva; esistono anche alcuni casi famosi, di persone che sono sopravvissute anche diverse decine d'anni attaccate ad una macchina che deve solo provvedere che il sistema non si squilibri, perché **dai centri bulbari vasomotori in giù il sistema è organizzato con afferenze ed efferenze autonome.** Ci interessano le componenti efferenti, ovvero quelle che fanno fare.

Dal punto di vista delle funzioni, questo sistema nervoso autonomo si divide in Ortosimpatico e Parasimpatico.

Parasimpatico: è costituito dal *nervo vago*, per eccellenza ,che innerva tutti i visceri e da una serie di *neuroni interrelati splancnici*, della pancia, della faccia e dagli orecchi in giù.

A cosa serve e cosa fa fare: serve per digerire, estrema sintesi è la digestione, per capire si fa un esempio di un anziano dopo pranzo si appisola su una sedia e inizia a sbavare, anche quando si sta per mangiare si ha la classica acquolina in bocca, è tutto merito del parasimpatico che stimola la secrezione delle ghiandole per digerire. Non solo le ghiandole salivari, ma un po' tutte le ghiandole per cui anche bronchi, quindi l'anziano di prima oltre che a sbavare sarà anche stimolato a sputare perché si sta riempiendo i polmoni di catarro e di secrezioni bronchiali. Quindi sarà stimolato ad urinare poiché la vescica inizia a contrarsi e poi si contrarrà anche la muscolatura liscia dell'intestino che stimolerà anche la peristalsi. C'è una stimolazione anche a livello oculare, è stimolata la miosi. Il cuore rallenta e sopraggiunge la sonnolenza, quasi un senso di ubriachezza sopraggiunge dopo un pasto molto abbondante poiché si ha a disposizione meno ossigeno che serve al digerente e alla cute che deve disperdere calore. Di conseguenza cala anche l'attenzione, non arriverà all'ischemia cerebrale. Dopo mangiato si sconsiglia inoltre di fare il bagno e di aspettare un certo periodo, questo perché il sangue va all'intestino e alla cute, ma i muscoli non sono protetti (come il cervello) e sono privi di ossigenazione e quindi senza ossigeno abbiamo visto che aumenta il calcio, si hanno le contratture, crampi. Se il crampo arriva al cuore, o se l'infarto per mancanza di ossigeno arriva all'intestino, che in quel momento sta consumando una quantità enorme di energia, si auto digerisce e questo è alla base di uno shock cardiogeno spesso irreversibile.

Quindi il parasimpatico è ciò che serve per digerire (estremizzato) e in minor misura per regolare la frequenza cardiaca e per dire che se mi espongo al sole devo vasodilatare la cute in maniera localizzata per disperdere calore. Lavora con **l'acetilcolina**.*(il prof dice che ne parleremo in un'altra lezione)*

Simpatico, o ortosimpatico, ha una sua caratteristica anatomica, ha una *neurone pre-gangliare* che termina nella catena latero-vertebrale dove fa sinapsi col *neurone post gangliare* che va a finire agli organi.

Mentre il parasimpatico ha delle sue caratteristiche precise anche anatomiche, l'ortosimpatico ha la caratteristica di non avere un nervo ben costruito, ma di avere delle fibre nervose che si

distribuiscono ai tessuti assieme ai vasi(sono appiccicate ai vasi) tranne in alcuni punti dove convergono i neuroni pregangliari che giungono ai gangli celiaci, il cosi detto plesso solare. La comunicazione pre/post gangliare funziona con l'acetilcolina, dopo di questo il post gangliare libera in periferia libera soprattutto **adrenalina** e **noradrenalina**.

LA REAZIONE DI LOTTA E FUGA

Le reazioni lotta e fuga bisogna riprenderle una per una in piccolo per comprendere gli adattamenti del sistema cardiovascolare per predire gli effetti dei farmaci attivi su questi recettori a livello vascolare e non solo.

Andiamo ad approfondire il significato di reazione di lotta e fuga. L'evento nasce biogeneticamente dalla sopravvivenza, ***"O mangi o ti mangio"***.

La maggior parte del mondo animale è notturna, una componente minoritaria, noi compresi, si muove di giorno. Di notte deve avvenire la midriasi pupillare, che è accompagnata dall'accomodamento del cristallino, perché io di notte devo vedere bene lontano anche con pochissima luce.

Agli studenti agli esami spesso capita di non riuscire più a parlare e che gli si azzeri la salivazione, è il lavoro del simpatico che sulle ghiandole fa fare l'opposto del parasimpatico, riduce le secrezioni.

Lo stesso vale per la sudorazione: la parte che è esposta al caldo deve vasodilatarsi e favorire anche la sudorazione, ma la parte che non è esposta al calo non deve sudare, è un esempio dell'antagonismo tra orto e parasimpatico.

Lo stesso vale per il cuore, che il protagonista di tutto. A seguito di uno spavento ci si sente "il cuore in gola", aumenta la frequenza. Quindi la prima risposta cardiaca è l'aumento di frequenza, a uno stress di qualsiasi tipo, come può anche essere la semplice attività fisica, prima aumenta la frequenza dopo di che aumenta la forza della contrazione.

Il cuore risponde con due meccanismi ad un aumento della richiesta di lavoro da parte del sistema simpatico, aumento della frequenza, aumento della forza di contrazione. Alla fine quello che conta è quanto sangue viene pompato al minuto, l'aumento della gittata cardiaca, quindi bisogna tenere conto di queste due componenti.

Nelle reazioni immediate, la frequenza è quella che parte per prima, quindi a prescindere dal tipo di stimolo che attiva l'ortosimpatico per prima aumenta la frequenza, poi aumentiamo la forza di contrazione; quest'ultima è anche il segnale per adattamenti fisiologici più importanti: il cuore di un atleta è più grosso perché è un fenomeno di adattamento a lungo termine. La frequenza e la forza di contrazione sono invece adattamenti a breve termine. Vedremo che questo ha un importanza clinica e terapeutica fondamentale.

A livello dei bronchi e dell'apparato respiratorio: la frequenza e la profondità dell'atto del respiro è un problema cerebrale perché che si muovono sono il diaframma, i muscoli intercostali, il trapezio, gli scaleni, cioè la muscolatura scheletrica è quella che compie il movimento quindi è comandata dal midollo spinale (dalla volontà). Per esempio se al muscolo diaframma noi tagliamo il nervo i

paralizza, non è come il cuore che magari perde la capacità di adattarsi, ma continua a battere, i muscoli scheletrici rispondono al comando del motoneurone. Quindi se devo respirare più in fretta o più profondamente è un problema dei nostri centri respiratori situati nel bulbo e nel diencefalo che regolano la profondità e a frequenza degli atti respiratori controllando l'attività dei motoneuroni. Qui stiamo parlando di una cosa diversa, puoi metterci anche tutta la forza che vuoi, ma se il bronco è chiuso l'aria non passa quindi si ha bisogno di far muovere l'aria, di conseguenza (*il sistema simpatico n.d.r.*) darà broncodilatazione ed è ance bene che non ci siano ostruzioni quindi ci sarà una riduzione delle secrezioni. Quando si corre si sente molto l'aria e dopo un po' dà fastidio e l'esercizio fisico che è accompagnato da bronco dilatazione e riduzione delle secrezioni, per azione dell'ortosimpatico, ma da un aumento degli stimoli irritativi, il muco è ridotto. Lo stimolo irritativo però è esso stesso stimolo di secrezione questo per dire che quando si fa attività fisica intensa si produce una forte irritazione bronchiale e per questo aumentano le secrezioni bronchiali, questo porta a espettorazione e tosse. Questo può giustificare il fatto che il 30% degli atleti professionisti dichiari di essere asmatico e di avere problemi di broncocostrizione, non è chiaro se questo sia per prendere l'autorizzazione a prendere dei farmaci tipo doping dell'area dell'ortosimpatico o se hanno per davvero problemi respiratori.

Queste azione sono sorrette dal famoso **asse ipotalamo/ipofisi/surrene** che è l'asse della vita, che controlla e agisce secondo la secrezione di ormoni, specialmente glucocorticoidi controllati a livello dell'ipotalamo tramite l'ipofisi e che vanno al surrene; ma nel surrene hanno anche un'altra azione tramite la midollare che è quella di liberare adrenalina. Quest'ultima media le stesse funzioni dell'ortosimpatico e agisce sugli stessi recettori, la differenza fondamentale è che l'adrenalina del surrene viene secreta nel sangue ed agisce come se fosse un ormone.

Vescica e intestino sono poco interessanti per l'ortosimpatico perché in linea di massima se si corre non si digerisce quindi è abbastanza logico pensare che ci sono poche attività intestinali. C'è contrazione dell'intestino e della vescica, quindi quando uno ha paura uno perde il controllo degli sfinteri.

La slide riporta tutto quello che succede nella reazione di lotta e fuga:

1- Aumenta l'ossigenazione dei muscoli: questo è legato ad

- un aumento della gittata cardiaca per aumento di frequenza e forza di contrazione,
- aumenta la pervietà dei bronchi,
- c'è vasodilatazione nei territori muscolari.

2- Come nel cuore nei muscoli scheletrici l'adrenalina provvede ad aumentare la forza di contrazione.

3- Aumenta l'apporto dei substrati energetici per far funzionare il muscolo, quindi c'è glicogeno lisi e lipolisi. La glicogeno lisi può aumentare il glucosio nel sangue e se ciò avviene durante l'esercizio entrano in gioco meccanismi di up-take del glucosio da parte dl muscolo e la glicemia rimane quella che è se invece questo è soltanto oggetto di stress questo è alla base di diabete di tipo 2.

4- Riduzione di perdite di sangue da ferite:Dal punto di vista della pelle dobbiamo pensare che in linea di massima si ha una riduzione della vascolarizzazione, il classico pallore, questa vasocostrizione ha un senso se inquadrato in un quadro di emergenza come può essere un sanguinamento a causa di una ferita, impedisce il dissanguamento.

5- Da un punto di vista comportamentale aumenta l'aggressività e la reattività che vi dice che il sistema parasimpatico è un sistema ad azione periferica, ma ha i suoi controlli e suoi recettori sono espressi anche a livello del sistema nervoso centrale. Molte patologie anche in ambito psichiatrico sono legate al malfunzionamento di sistemi adrenergici nel cervello.

6- Midriasi

7- Piloerezione come si vede nel gatto quando c'ha il cane davanti e che serve per simulare un volume maggiore, è un meccanismo che abbiamo anche noi in risposta al freddo o alla paura.

IL SISTEMA ORTOSIMPATICO E’ PARTE DI UN SISTEMA NEUROENDOCRINO DEDICATO ALLE RISPOSTE ALLO STRESS

L'ortosimpatico è il sistema di risposta allo stress con controllo centrale con quest'asse ipotalamo, ipofisi, surrene, con il surrene che ha una doppia funzione: secrezione di adrenalina (uguale all’ortosimpatico) e forte azione di tipo metabolico con liberazione di sostanze di tipo nutritivo che aumentano l'attività del muscolo; per questo se uno tende ad essere stressato tende a essere magro e a perdere peso, perché libera in continuazione acidi grassi e zuccheri che servono a sostenere queste risposte.

C'è ritenzione idrica e controllo dell'attività renale con azione dell' aldosterone e anche attraverso meccanismi umorali. La ritenzione idrica ha la finalità di aumentare il volume del sangue. Quindi l'aumento del volume del sangue, l'aumento della forza di contrazione del cuore e un aumento della sua frequenza sono alla base di una aumento della pressione che può portare l'individuo verso uno stato cronico di pressione aumentata che è definito ipertensione.

REGOLA GENERALE1

Il sistema nervoso simpatico è costituito da ormoni che vengono detti Catecolamine, queste ultime sono adrenalina, noradrenalina e dopamina. *(fa una battuta sul fatto che esiste un gruppo rock si chiama adrenalina e dice di non confondersi)*

REGOLA GENERALE 2

Le risposte ai neurotrasmettitori dell'ortosimpatico, adrenalina e noradrenalina e dopamina sono legate alla presenza sulle cellule effettrici di quindi cellule muscolari lisce, ghiandole e cuore di recettori per le catecolamine.

Questi recettori hanno alcune particolarità.

Sono solo di tipo GPCR(recettori accoppiati a G proteina che fanno fare secondi messaggeri) già da qui (vedi immagine) vedete come questi recettori siano siglati in modo diverso e come se io vado a fare una descrizione di queste sigle per organo per cui nell'occhio il muscolo radiale ha recettori α e il muscolo ciliare ha recettori beta. Quello che serve che voi capiate è che:

1) i recettori per le catecolamine si dividono in due grandi famiglie alfa e beta.

2) diversi organi hanno recettori alfa e beta con alcune particolari eccezioni molto interessanti: a livello del cuore vediamo esclusivamente recettori di tipo beta1 mentre a livello bronchiale vediamo nella muscolatura liscia dei bronchi recettori di tipo beta2. Mentre dappertutto c'è una sorta di mescolanza, che ha senso, i vasi dei muscoli si devono dilatare sotto stress quindi devono avere un tipo di recettore che i vasi dell'arteria si devono chiudere. Quindi non può essere lo stesso recettore che in una situazione fa fare vasodilatazione e in un'altra vasocostrizione, quindi avremo 2 recettori diversi, alfa e beta. ma in alcuni organi c'è una segregazione molto utile che è beta1 nel cuore beta2 nei bronchi.

Questo è importante innanzitutto perché un recettore diverso svolge un lavoro diverso,(mostra una classificazione). abbiamo più sottotipi: beta1-beta2-beta3e alfa1-alfa2. Il lavoro dei farmacologi è andare a studiare le diversità di questi recettori e le diverse azioni dei farmaci, quindi noi possiamo lavorare in terapia con farmaci diversi.

3)La dopamina poi ha dei suoi recettori che non c'entrano niente con quelli dell'adrenalina, sono sempre associati a G proteina ma sono recettori che vengono accompagnati dalla sigla D per dopamina.

Quello che dovete vedere è che recettori di tipo alfa1 sono tutti accompagnati da un aumento di Calcio(IP3 quindi aumento del Calcio) quindi tutte quelle muscolature lisce in cui l'adrenalina fa fare contrazione è perché c'è un recettore alfa1.

Il recettore alfa2 che è un po' particolare per la sua farmacologia non fa aumentare il calcio e non fa aumentare l'AMPciclico, lo fa invece ridurre(L'AMPciclico).

I recettori beta invece 1-2-3 fanno tutti aumentare l'AMPciclico e hanno la caratteristica di essere un po' dappertutto, ma con il cuore c'è solo il beta1 e nei bronchi c'è solo il beta2 e il beta3 è soprattutto sulle cellule adipose: sotto stress si diventa magri poiché l'adrenalina stimola recettori beta3 che attivano le lipasi.

Dice di guardare la diapositiva(diapositiva 8: tabella9-3) autonomamente in cui si osserva la distribuzione tissutale caratteristica:

Gli alfa1 su praticamente tutti i vasi.

I beta1 su cuore e apparato iuxtaglomerulare quindi sempre nel sistema cardiovascolare.

I beta2 nel respiratorio e anche nell'utero(si può controllare la contrazione uterina con farmaci catecolaminergici) cellule adipose ecc.

SINTESI DELLE CATECOLAMINE

Cosa sono le catecolamine? Sono dei **neurotrasmettitori con un nucleo catecolico**.

La biosintesi parte dall'aminoacido *tirosina* che viene idrossilato a *dopa* poi decarbossilato a *dopamina* poi beta-ossidato a *noradrenalina* poi metilato a *adrenalina*. È una cascata enzimatica in linea, per cui il neurone che produce dopamina è semplicemente un neurone catecolaminergico il cui ultimo enzima è questo della sintesi della dopamina. I nervi periferici dell'ortosimpatico producono soprattutto noradrenalina, è invece a livello della midollare che si produce anche adrenalina.

ACCUMULO VESCICOLARE DEI NEUROTRASMETTITORI

Questi neurotrasmettitori sono sintetizzati a livello delle terminazioni, direttamente dove devono essere secreti, e impacchettati dentro le vescicole sinaptiche attraverso trasportatori specifici che usano un gradiente protonico. Le vescicole sinaptiche sono ricche di questo trasportatore che usa protone (dato che l'interno della vescicola è molto acido) e lo sbatte fuori con il suo gradiente e lo scambia con la catecolamina. All'interno c'è una grande quantità di neurotrasmettitore che riesce a starci anche perché ci sono anche tutta una serie di proteine e altre cose entro le vescicole che fanno si che il neurotrasmettitore riesca a stare dentro.

È importante capire che esiste questo meccanismo sia per far entrare questo neurotrasmettitore dentro la vescicola che per mantenerlo, perché questo meccanismo, soprattutto quello di mantenere il neurotrasmettitore all’interno, è target delle anfetamine. Quello che le anfetamine fanno è spaccare(?) via il neurotrasmettitore dalla vescicola per cui le catecolamine escono dalla vescicola citoplasma, dovrebbero rimanere, ma siccome sono in una quantità molto elevata, escono dal terminale pre-sinaptico. Quindi l'effetto dell'anfetamina è quella di far liberare ai neuroni una grande quantità di catecolamine. L'effetto dell'anfetamina è proprio tipico di una reazione di lotta e fuga: tachicardia, aumento della vascolarizzazione, pallore, midriasi aggressività.

L'ecstasy fa la stessa cosa come meccanismo d'azione, ma lo fa sulla serotonina e non sulle catecolamine. Questo è un meccanismo comune ai neurotrasmettitori le anfetamine interferiscono con l'adrenalina, l'ecstasy con la serotonina.

IL RILASCIO DI NEUROTRASMETTITORI AVVIENE PER FUSIONE DELLE VESCICOLE PRE-SINAPTICHE CON LA MEMBRANA DEL NEURONE

I neurotrasmettitori sono segregati all'interno delle vescicole e a meno che non ci sia uno stimolo per sbatterlo fuori dai neurotrasmettitori questi restano dentro nella cellula. Quando il terminale viene depolarizzato le vescicole si fondono e il neurotrasmettitore va nella sinapsi e attiva i recettori presenti nel post-sinaptico. Questi recettori che abbiamo detto possono essere alfa1-2 o beta1-2-3.

MODULAZIONE DEL RILASCIO DI NEUROTRASMETTITORI

Cosa succede all'adrenalina che è uscita? una parte viene **distrutta da enzimi** presenti all'esterno ma nella stragrande maggioranza ciò che viene esocitato viene risucchiato dalla stessa cellula con un trasporto (**uptake**) che ha per le catecolamine la caratteristica di essere bloccato dalla cocaina. Quindi quando si "sniffa" l'adrenalina viene normalmente buttata fuori, ma non viene ripresa, quindi quello che doveva essere un piccolo segnale di adattamento alla temperatura, al buio o all'eccitazione diventa una cosa enormemente potenziata.

Il sistema ha poi tutto un suo <u>meccanismo di autocontrollo</u>. Il rilascio di adrenalina è regolato dalla depolarizzazione e quindi ci vuole un segnale che dal neurone pre gangliare vada al post-gangliare, ma ci vuole anche un controllo periferico perché sulla superficie del terminale c'è una caratteristica molto ben studiata, ed è stato questo il primo sistema in cui è stato identificato; voi dovete immaginare che tutte le sinapsi del nostro cervello hanno questo meccanismo di regolazione periferica a circuito breve. In questo caso il sistema ha 2 tipi di recettori, il recettore alfa,soprattutto di tipa alfa2, è un recettore presente sulla stessa terminazione che libera adrenalina ed ha significato di inibire il rilascio di adrenalina. Quindi il neurone libera e se per caso ha liberato troppo ha il recettore alfa2 che tramite un <u>meccanismo a feedback</u> lo inibisce. Questo per far capire come farmaci che attivano questo sistema in pratica inibiscono l'ortosimpatico e vedremo che infatti rientrano gli Alfa2 tra i farmaci anti ipertensivi.

C'è anche un altro meccanismo che è legato ai recettori beta cioè se rilascio poca adrenalina vengono <u>attivati dei recettori pre sinaptici beta che fanno aumentare il rilascio</u>.

Il concetto è che tutti i terminali nervosi hanno dei sensori pre sinaptici per gli stessi neurotrasmettitori che liberano che hanno un significato modulatorio positivo o negativo.

Si sono studiate le implicazioni in farmacologia e si sono sviluppati farmaci attivi su queto recettore per una terapia anti ipertensiva.

(SLIDE SUCCESSIVA) Il meccanismo di recupero e spegnimento del segnale catecolaminergico è fatto con il meccanismo del re-uptake e questo meccanismo si basa sulla presenza di trasportatori specifici e di membrana che ripigliano la catecolamina e la portano all'interno della cellula dove poi viene rimessa dentro nelle vescicole, questo meccanismo è bloccato dagli psicostimolanti tipo la cocaina.

I RECETTORI PER L’ADRENALINA SONO TUTTI GPCR CHE PRODUCONO II MESSAGGERI

Sono tutti GPCR che producono secondi messaggeri.

Alfa1→ aumento del calcio

Alfa2→inibizione AMPciclico

Beta →aumento AMPciclico.

(nella slide sono indicati anche gli effetti di altri recettori, ndr)

FARMACI ATTIVI SUI RECETTORI ADRENERGICI

Con questo inquadramento si può intuire cosa succederà a livello del sistema cardiovascolare se andiamo a stimolare il sistema adrenergico.

PREMESSE DA RICORDARE

Ci sono delle premesse da ricordare:

l'ortosimpatico per l'intestino non serve a niente, se uno ha mal di pancia deve prendere il buscopan che è un anti-muscarinico che blocca l'attività del parasimpatico.

- La farmacologia dell'ortosimpatico è una farmacologia cardiovascolare. È il cuore, sono i vasi e la regolazione della pressione che sono molto sensibili a queste categorie di farmaci, e anche il sistema respiratorio.
- La seconda cosa che è importante ricordare, capiti quel che capiti, il vero problema è di calmare il cuore: se manca il sangue non si sta in piedi, si sviene, ci pensa già il vostro organismo di mettervi in condizioni migliori per avere sangue nell'unica parte del corpo in cui serve, che è il cervello. Se il sangue non arriva al piede come per i pazienti con vasculopatie periferiche da diabete *(si vive lo stesso n.d.r*.). Il cervello è l'organo protetto, se viene un calo di pressione di sviene e si cade e quindi non si deve pompare il sangue contro la forza di gravità; lo stare distesi è un meccanismo di di facilitazione della circolazione cerebrale.

Il cuore dev'essere calmato anche per un motivo che non è intuitivo: il cuore ha una sistole e una diastole ed è irrorato da delle arterie, le coronarie, i cui capillari irrorano il cuore. I capillari hanno parete molto sottile quindi sono facilmente escludibili e comprimibili. Quindi questi vasi a parete floscia all'interno del muscolo quando questo si contrae collabiscono. Se il cuore prende ossigeno di capillari e durante la sistole i capillari sono schiacciati il sangue non ci va. Il cuore durante la sistole non riceve ossigeno, lo riceve durante la diastole. (diastole= momento di ossigenazione del cuore)

Si ho una frequenza di 60 battiti al minuto: La sistole dura in media 150millisecondi può essere più o di meno a seconda dell'individualità. Quindi con una frequenza di un battito al minuto il cuore non riceve ossigeno per 150millisecondi e lo riceve per 850 millisecondi.

Se raddoppia la frequenza vado a 120 battiti al minuto e la sistole resta a 150millisecondo, ma il tempo della diastole si è dimezzato da 850 millisecondi si passa a 350 millisecondi poiché la frequenza è salita a 2 battiti al secondo per 120 al minuto.

Se il cuore batte a 180 ogni ciclo dura 300 millisecondi 150 di sistole e 150 di diastole cioè più rapida è la frequenza di battito del cuore minore è il tempo di ossigenazione e se manca l'ossigeno viene un crampo, non riesce più a controllare la concentrazione elettrica poiché la pompa sodio/potassio non funziona più e i suoi trasportatori non funzionano più e quindi succedono aritmie e perdita di capacità di ossigenazione significa mettere il cuore in condizione di andare verso l'infarto.

Quindi tutte le volte che io aumento la frequenza del cuore ho problemi, metto il cuore in difficoltà, però abbiamo anche visto che il riflesso di aumentare la frequenza è il primo che noi abbiamo. Quando c'è una persona che ha appena avuto un infarto il consiglio è di mantenere la calma e di non agitarsi, cosi come questo consiglio vale per un cardiopatico.

Una volta quando non c'era la farmacologia di ora per il cardiocircolatorio i farmaci che si somministravano agli infartuati erano i tranquillanti come la morfina, non tanto per il dolore, ma per sedare a paura che comporta un aumento della frequenza.

In tutte le condizioni cardiache se vogliamo salvaguardare il cuore dobbiamo ridurre la frequenza anche se c'è uno scompenso, in cui un aumento della frequenza non è causato dallo stress ma è un meccanismo di auto stimolazione interna per superare il momento di difficoltà, il cuore mette in atto una serie di meccanismi che aumentano la frequenza, ma che sono però dannosi per il cuore.

Dal punto di vista medico la farmacologia del cuore vive su una grande classe di farmaci che sono quei farmaci che riducono la frequenza del cuore che sono i **beta-bloccanti** sono farmaci del sistema adrenergico.

Questo è un paradigma fondamentale da non dimenticare anche perché tutti gli scompensi alla fine si traducono nel fatto che le cellule ricevono poco ossigeno perché il cuore funziona male o perché i polmoni funzionano male quindi devo fare quanto di meglio per migliorare le funzioni polmonari.

- Quindi(terza premessa) indurre la bronco dilatazione diventa un paradigma importante terapeutico.
- (quarta premessa:dati i ruoli contrapposti che sono richiesti ai farmaci sui recettori adrenergici, la sua specificità recettoriale è fondamentale) Io ho bisogno di attivare i bronchi e fare ciò che fa l'adrenalina, quindi di stimolare i bronchi, ma allo stesso tempo se stimolo i bronchi stimolo anche il cuore, e il cuore deve essere inibito, ma se lo inibisco inibisco anche i bronchi. Quindi la medicina deve attivare da un lato e ridurre da un altro. In questo ci viene in aiuto il fatto che c'è questa distribuzione diversa dei recettori quale che nei bronchi c'è solo beata2 e nel cuore solo beta1; quindi la specificità dei farmaci nella capacità di riconoscere specificamente uno o l'altro diventa un paradigma molto importante.

RECETTORI ADRENERGICI ALFA

Allora ci troviamo qua

Gli **alfa1**:sono quelli che aumentano l'AMPciclico, che aumentano la PLC e le concentrazioni di calcio.

Gli **alfa2**: inibiscono la produzione di AMPciclico, e sono importanti regolatori pre sinaptici del rilascio di catecolamine.

I RECETTORI ADRENERGICI BETA

I recettori beta: stimolano l'aumento di concentrazione di AMPciclico.

Sono beta1-2-3 con specifiche distribuzioni, ci sono dappertutto ma

nel cuore solo **beta1**

nei bronchi solo **beta2**

nell'adiposo solo **beta3**.

EFFETTI OPPOSTI DEI RECETTORI ALFA E BETA SULLA CONTRAZIONE DELLE CELLULE MUSCOLARI LISCIE (e slide seguenti)

I recettori alfa attraverso un aumento del calcio inducono la contrazione.

I recettori beta attraverso la concentrazione di AMPciclico inducono il rilassamento della muscolatura liscia.

Invece per la muscolatura striata soprattutto il cuore **attraverso i recettori beta1 aumentano la forza di contrazione e potenziando l'attività dei canali del calcio.** Si ha un aumento della frequenza grazie alla stimolazione di un particolare canale presente nelle cellule pacemaker del cuore (quelle che inducono il ritmo, le cellule del nodo del seno) che è sensibile all'adrenalina; regola la frequenza e la fa aumentare. (vedere slide con tabella 9-4)

RISPOSTE PRESSORIE ALFA, BETA E ALFA+BETA

Qui(vedi figura) stiamo misurando la pressione.

Se diamo un farmaco che attiva i recettori alfa(fenilefrina), che sono quelli che fanno contrarre le cellule muscolari lisce, (quindi se io stimolo solo i recettori alfa) i vasi tendono a chiudersi, quindi la pressione sale.

Se io do un farmaco che agisce sia sugli alfa che sui beta (adrenalina) avrò una risposta basale mescolata alfa e beta e una risposta cardiaca più beta. Il risultato è un aumento subitaneo della pressione che però poi è in grado di adattarsi e di diminuire un pochettino perché ho un aumento di

frequenza, ma anche una certa vasodilatazione periferica. Il territorio muscolare è vasodilatato, quindi la pressione non è cosi alta. Qui la pressione sale rapidamente perché prima avevo solo i vasi che si contraevano qui invece ho anche il cuore che sta funzionando quindi aumenta la frequenza, la risposta cardiaca immediata e quindi aumento rapido della pressione e poi diminuzione perché produco con la stessa adrenalina vasodilatazione da qualche altra parte quindi ho un aumento delle resistenze periferiche. Qui ho un aumento delle resistenze periferiche seguito poi in alcuni distretti da una diminuzione. Quello che si vede è che la pressione differenziale massima di fatti aumenta, la minima è segnale delle resistenze periferiche.

Se usiamo un farmaco che stimola solo i recettori beta (isoprenalina)ho un aumento iniziale della frequenza che porta a un aumento della pressione a cui segue però una forte vasodilatazione non associata all'azione alfa, e quindi alla vasocostrizione; la pressione tende a diminuire.

Questo è quello che succede durante l'esercizio fisico. Quando si corre aumenta la frequenza, ma subito dopo aumenta la vascolarizzazione dei muscoli per cui facendo esercizio fisico la pressione non va alle stelle, tant'è che il joggin viene considerato uno degli strumenti utilizzati in terapia cardiovascolare per ridurre la pressione arteriosa e ridurre gli stati di scompenso cardiaco.

(*slide seguente: figura 9-7*) Altro caso: più complicato, se io blocco i riflessi gangliari quindi vedo soltanto puramente la vasocostrizione e la vedo aumentare in risposta a una normale condizione; se aumento la vasocostrizione di riflesso ho una diminuzione della frequenze cardiaca, ma se blocco le risposte gangliari e i riflessi, ho vasocostrizione ma non ho la riduzione, è complicato.

Il sunto di questo è:

- la prima risposta di adattamento del cuore è aumento della frequenza il secondo è adattamento della forza di contrazione e della gittata,
- le risposte vascolari sono costantemente associate a fenomeni di compenso per cui se io penso di abbassare la frequenza cardiaca o la pressione arteriosa inducendo una vasodilatazione quello che ho è un riflesso cardiaco di adattamento.

Quindi se di colpo un iperteso induco vasodilatazione (per far scendere la pressione) la risposta di riflesso è tachicardia, quindi magari la pressione scende però c'è un compenso tachicardico.

- Il gioco della regolazione della pressione lavora sui costituenti della macchina per la regolazione della pressione cercando di ridurre al massimo le capacità di compenso e le capacità di riflesso.

Vedremo che quello che a prima vista dovrebbe essere lo strumento di regolazione per chi ha la pressione troppo bassa o troppo alta, che è regolazione del tono vascolare, è uno degli ultimi strumenti che si vanno ad usare a causa dei riflessi che si associano a tutto questo sistema.

Lezione di Farmacologia (sem1) del 12/12/2012 (1)

Ortosimpatico e farmaci relativi

12/12/2012

Sbobinatore: Silvia Catelan

Revisore:Tommaso Baroni

Premesse

L' **ortosimpatico** è un regolatore del sistema cardio vascolare. Cos'è la sintesi delle catecolamine? Ri inquadriamo l'argomento. Distinzione ortosimpatico e parasimpatico, attività del simpatico con il controllo del sistema cardio vascolare, il neurotrasmettitore attraverso cui l'ortosimpatico controlla gli organi periferici sono catecolamine: molecole con un gruppo catecolico a cui si associano delle catene laterali. Si parte dall'amminoacido tirosina, viene idrossilato a dopa e decarbossilato a dopamina, poi noradrenalina e adrenalina. I 3diversi tipi di recettori finali sono adrenalina, noradrenalina e dopamina, i primi due agiscono sugli stessi recettori, la dopamina ha dei recettori propri. Il sistema catecolaminergico che vediamo a livello periferico è anche selettivamente rappresentato a livello del SNC per cui deficit di questo sistema si riflettono in patologie comportamentali, sia psichiatriche che prettamente comportamentali. Questo è da tener presente nella farmacologia del sistema periferico con effetti collaterali sul comportamento e viceversa con pazienti con patologie psichiatriche ci aspettiamo degli effetti vascolari.

Questi neurotrasmettitori vengono fabbricati nei terminali sinaptici, inseriti in vescicole utilizzando un trasportatore che usa come supporto energetico il fatto che all'interno della vescicola ci sono molti protoni, quindi usa uno scambiatore che fa entrare catecolamine buttando fuori il protone; questa acidificazione all'interno della vescicola e permessa da una pompa che consuma ATP. Quando sono dentro in alta concentrazione le catecolamine rimangono imbrigliate in una matrice proteica dentro le vescicole che le trattiene. Questo trattenimento consente all'adrenalina di rimanere dentro e di uscire nello spazio sinaptico esclusivamente quando il contenuto della vescicola viene liberato, cosa che avviene a seguito di una depolarizzazione del terminale sinaptico. La persistenza di questo segnale, cioè quanto dura l'adrenalina in questo spazio? Dura un tempo relativamente modesto, dipende dal tipo di sinapsi, ma il meccanismo principale che fa sì che le catecolamine scompaiano dalla chiave sinaptica è un meccanismo di re uptake cioè un meccanismo in base al quale lo stesso neurotrasmettitore buttato fuori viene ripreso dalla cellula. Vedremo che esistono dei farmaci come la cocaina che sono in grado di interferire con questo meccanismo di re uptake. Allo stesso tempo ci sono dei farmaci (che vedremo oggi) che interferiscono con il fatto che le catecolamine possano restare dentro le vescicole e imbrigliate da quella matrice proteica, queste sono le anfetamine.

L'altro segnale importante che bisogna ricordare è che il rilascio di neurotrasmettitore, quindi la forza di un terminale sinaptico di tipo catecolaminergico è auto regolata; in altre parole esistono sulla superficie dello stesso terminale nervoso dei recettori sensibili anch'essi alle catecolamine in cui per esempio il recettore alfa 2 è un recettore inibitorio che ostacola l'eccitabilità dell'assone. Questo recettore non è un recettore ad alta affinità quindi diventa attivato quando la concentrazione di adrenalina diventa importante, quindi quando sale troppo la concentrazione nella chiave sinaptica si attiva il recettore alfa 2 che agisce riducendo l'attività del segnale. Esistono poi altri tipi di auto recettori localizzati sulla membrana presinaptica così come esistono recettori per altri neurotrasmettitori cioè ricordate che una sinapsi non funziona soltanto se ha lo stimolo che gli arriva dall'alto ma ha tutto un meccanismo di regolazione in parte autogena (cioè legata al

neurotrasmettitore che libera) ma anche dipendente da altri neurotrasmettitori. Questo si chiama cross stoke (?) cioè la capacità di un sistema di parlare con altri sistemi ed essere da essi influenzati.

L'altra caratteristica è che sono **recettori accoppiati a G protein** e producono secondi messaggeri. I secondi messaggeri connessi con il sistema adrenergico sono

- l'adenilato ciclasi quindi la produzione di AMP ciclico,
- la fosfolipasi C e i canali al calcio, quindi l'aumento della concentrazione di calcio;

l'aumento dell'attività dell'adenilato ciclasi quindi l'aumento di cAMP è accoppiato ai recettori beta, sia beta 1 che beta 2 che beta 3. L'aumento de calcio oppure la riduzione del cAMP sono invece legati ai recettori alfa. Abbiamo due classi di recettori, α e β, con due meccanismi di segnalazione diversi: i recettori β aumento di cAMP, i recettori α riduzione del cAMP oppure aumento del calcio. Questa classificazione ci sarà utile per inquadrare gli effetti dei recettori e dei farmaci attivi sui recettori. Questa premessa è importante.

Farmacologia del sistema adrenergico

Quando si parla di farmacologia del sistema adrenergico si parla fondamentalmente di funzione cardiocircolatoria e respiratoria, perché è lì che si è sviluppata. Dal punto di vista medico è sempre meglio ridurre il sistema cardiocircolatorio e quindi il cardiologo guarda ai bloccanti del sistema adrenergico. C'è una funzione in cui invece è molto utile l'aumento di questo sistema che è la funzione respiratoria perché il calibro dei bronchi è estremamente sensibile ai livelli di adrenalina. Il pneumologo guarda ai farmaci agonisti del sistema adrenergico.

Perché è utile frenare il sistema cardiocircolatorio? Perché se uno ha la pressione bassa, scarsa irrorazione, male che vada si mette a letto e sta sdraiato. Se invece ha la pressione alta dopo anni arrivano le complicanze dell'ipertensione o comunque delle situazioni con ritmo, frequenze e pressioni elevate. Sono complicanze che riguardano il cuore stesso: o c'è infarto, oppure consumato dall'eccesso di lavoro e dalle modificazioni anche morfologiche che si instaurano in conseguenza di questo eccesso di lavoro, il cuore va in insufficienza cardiaca: la maggior parte dei pazienti in ambito cardiologico presentano problemi di forza del cuore o problemi di ipertensione. **Insufficienza cardiaca** e **ipertensione** sono le due grandi patologie. In entrambi i casi quello che bisogna fare nell'ipertensione è ovvio, devo ridurre il lavoro del cuore, il tono dei vasi, la pressione, quindi è facile capire che i farmaci bloccanti sono utili nell'ipertensione. Sono utili anche in altri condizioni come l'infarto e l'insufficienza cardiaca (per il discorso che il cuore respira cioè prende ossigeno dai suoi capillari quando è in diastole, l'alta frequenza significa una riduzione del tempo di diastole e quindi uno svantaggio trofico per il cuore). Il cardiologo senza dubbi sarà un fan dei farmaci che bloccano il sistema adrenergico (*ripigliati! N.d.R.*), altre volte purtroppo il sistema cardiocircolatorio e respiratorio vanno in compagnia per cui chi ha un insufficienza cardiaca spesso ha anche un insufficienza respiratoria dove si pone il dilemma "cosa facciamo? Andiamo su farmaci per stimolare il polmone che però ci stimolano il cuore che non vorremmo oppure dobbiamo abbassare il sistema cardio circolatorio ma allora abbassiamo anche al funzionalità respiratoria che non vorremmo?".

Ci sono **farmaci selettivi** cioè la farmacologia viene in aiuto a questo dilemma riuscendo a mettere a punto degli strumenti "selettivi". Per cui potremmo stimolare il sistema adrenergico senza intervenire sul cardiocircolatorio e deprimere il cardiocircolatorio senza danneggiare più di tanto il sistema respiratorio. Questa è una premessa importante dato che è una complicazione della terapia

cardiocircolatoria e respiratoria. La selettività significa essere capaci di lavorare su specifici recettori che in alcuni casi, come abbiamo visto per i recettori beta, hanno anche una certa selettività di distribuzione. Per cui i recettori β1 sono prevalentemente nel cuore e i β2 sono invece nei bronchi. Cosa fanno i recettori?

- I recettori α sono accoppiati ad aumento del calcio:
  - Gli α1 stimolano la PLC quindi aumento calcio contrazione
  - Gli α2 sono un po' più promiscui, nel senso che inibiscono la produzione di cAMP e questo non è un segnale che fa rilassare la cellula muscolare liscia, semplicemente si riduce il rilassamento (che non significa che si contrae). Vedremo che i farmaci che agiscono su questi recettori hanno una posizione strategica dentro il SNC: la farmacologia del sistema α2 sarà una farmacologia del sistema cardiovascolare ad azione nel cervello.
- Mentre i recettori β hanno la caratteristica di distinguersi in 3 tipi, tutti stimolano la produzione di cAMP:
  - β1 è prevalente nel cuore, non è esclusivo perché un 30% dei recettori cardiaci sono β2, però la maggioranza sono β1.
  - Nei bronchi sono quasi esclusivamente β2
  - Negli adipociti sono β3.

Nei vasi c'è una mescolanza di tutti e 3 i tipi.

Effetti dell' cAMP e calcio sulle cellule muscolari

- Nelle **cellule muscolari lisce** il calcio fa aumentare la contrazione attraverso l'attivazione della chinasi della catena leggera delle miosina. cAMP blocca l'enzima chiave e quindi induce rilassamento.
- Nel **muscolo striato** invece sia cAMP che calcio partecipano alla contrazione: il calcio direttamente provocando la contrazione; il cAMP producendo la fosforilazione dei canali al calcio, questo li rende più permeabili allo ione calcio e quindi c'è un influsso maggiore di calcio intracellulare. Inoltre a livello del cuore esistono particolari tipi di canali che sono quelli che dettano il ritmo/frequenza cardiaca e su questi il cAMP è particolarmente efficace. Quindi i recettori β non solo partecipano a controllare la contrazione ma anche la frequenza del cuore.

Tabella che riassume cosa succede attivando i vari tipi di recettore. Stimolando i recettori α si ha un aumento delle resistenze vascolari a livello cutaneo per esempio dove si impallidisce proprio perché nella cute il segnale principale delle catecolamine è la vasocostrizione. Nel muscolo invece ("che deve correre per scappare") esistono molti recettori β per cui è prevalente l'effetto legato alla loro stimolazione che è una riduzione delle resistenze periferiche cioè una vasodilatazione. Nel cuore il sistema α fa poco/niente, il sistema β invece è molto attivo.

La pressione arteriosa facendo una vasocostrizione sistemica, aumenta. Mentre se stimolo β induco sì un aumento della frequenza e forza di contrazione ma induco anche una dilatazione del territorio vascolare dei muscoli (che è grande!) non ottengo una variazione, o se la ottengo è una riduzione, della pressione media.

Recettori α: esempio con la **noradrenalina** che è molto attiva sui recettori α, poco sui recettori β. Meglio sarebbe usare un agonista α. Se aumenta la noradrenalina o se si stimola il sistema α: la frequenza cardiaca si abbassa, la pressione arteriosa e le resistenze periferiche si alzano. Perché si abbassa la frequenza cardiaca? La pressione e le resistenze salgono, il cuore è regolato da un sistema di riflessi interni per cui la frequenza cardiaca è estremamente sensibile alle variazioni della pressione, è come un sistema di adattamento: " aumenta la pressione, ti mando i segnali (barocettori, SNC) di ritorno per cui ti abbasso la frequenza". NB questo non è l'effetto del farmaco, l'effetto del farmaco suscita dei riflessi compensatori che si manifestano con la riduzione della frequenza cardiaca.

Domanda studente: se il farmaco fosse posto solo sul cuore si avrebbe un aumento della frequenza cardiaca?

Risposta: il farmaco agisce su tutto quello che incontra. Cancellati dalla testa la parola adrenalina e mettici fenilefrina (farmaco attivo sui recettori alfa), stai dando una stimolazione α con un sistema complesso, ti dovresti aspettare giustamente una aumento delle resistenze (vasi che si chiudono), un aumento della pressione soprattutto la MASSIMA perché è quella molto sensibile alle resistenze, quello che non ti aspetti è la riduzione della frequenza cardiaca, al limite nessun effetto ma non una riduzione! Ma stai attento: è vero che il farmaco sul cuore non fa niente lui, ma quello che lui ha provocato suscita dei riflessi di compenso che tramite nuclei vasomotori diventa un segnale di rallentamento della frequenza, ok?

Questo punto è estremamente importante perché il sistema cardiovascolare è organizzato in modo che la risposta immediata la faccio con la frequenza, poi mette il gioco la forza di contrazione (schiaccio meglio il sangue), poi metto un altro adattamento cioè rendo il cuore più grosso o che si dilata. Questo perché c'è una gerarchi di risposte: prima la frequenza cardiaca, poi la forza di contrazione, poi il volume cardiaco. Questi sono i 3 fenomeni di adattamento del miocardio. Non c'è da stupirsi se una somministrazione acuta aumenta la resistenza periferica e riduce la frequenza.

Recettori β: ora vediamo cosa succede con il farmaco che stimola i recettori β. Le resistenze periferiche diminuiscono perché i recettori β inducono vasodilatazione soprattutto a livello delle gambe e dei muscoli, il letto vascolare diventa ampio, se le resistenze si abbassano si abbassa la pressione MINIMA e quindi la differenziale tra massima e minima diventa più alta; la pressione media cambia un po' ma soprattutto si abbassa la minima. Un farmaco che agisce sui recettori β produce tachicardia, ricorda che il farmaco è qualcosa di enorme per cui l'effetto generato con il farmaco è quasi sempre superiore all'effetto del normale sistema. Quindi abbiamo: riduzione resistenze, tachicardia ma non c'è un gran cambiamento di pressione.

Nella situazione normale cioè con l'adrenalina si ha una miscela di tutte: le resistenze periferiche cambiano modestamente perché da un lato si dilatano i vasi dei muscoli dall'altro si chiudono i vasi della pelle (i muscoli sono più voluminosi quindi prevale l'abbassamento delle resistenze periferiche); il ritmo è un po' stimolato dai β, un po' dalla riduzione delle resistenze periferiche e quindi la pressione arteriosa non cambia molto (non è che andando a correre vi aumenta la pressione). Quando fai una moderata attività fisica hai una moderata stimolazione del sistema simpatico, senza ipertensione! Il sistema adrenergico normalmente non porta a ipertensione, solo quando è sregolato/ipereccitato/iper stimolato (per esempio in condizioni di stress) l'effetto ipertensivo si manifesta.

(Idea del prof con cui dobbiamo guardare un farmaco: anticipare i sintomi che vedrò nel paziente e anche gli effetti collaterali possibili).

Classificazione

Distinguiamo agonisti e antagonisti. Oggi parliamo degli agonisti.

Distinguiamo agonisti diretti, indiretti e misti.

- Diretto: farmaco che va sul recettore, nel sito dove si dovrebbe legare l'adrenalina, e agisce come un classico agonista.
- Indiretto: si intendono dei farmaci che sul recettore non sono capaci di fare nulla però stimolano il sistema adrenergico, impediscono all'adrenalina di rimanere nella vescicola dove solitamente è immagazzinata, l'adrenalina esce e va a stimolare il recettore. Per questo vengono detti indiretti, non sono loro ad attivare il recettore, lo fanno in questo modo indiretto.
- Misti: un po' attivano il recettore e un po' attivano il meccanismo di rilascio dell'adrenalina.

Condizione normale: terminale libera noradrenalina, poi questa viene ri-captata e rimessa dentro le vescicole. Se io uso un farmaco simpatico mimetico indiretto che spiazza l'adrenalina dalle vescicole, l'adrenalina continua ad essere fuori perché non può entrare nelle vescicole, quindi ho un tono/concentrazione di adrenalina molto alto. Dato che non riesco a riempire le vescicole dopo un po' il terminale non ha più adrenalina e diventa incapace di funzionare (il farmaco anche se è contenuto nelle vescicole abbiamo detto che non è in grado di legare il recettore) e quindi l'effetto scompare.

Esempio: prendo **anfetamina**, mi agito/eccito per effetto dell'adrenalina nel SNC, consumo tutta l'adrenalina e divento catatonico. Dato che ciò avviene molto velocemente (qualche ora) questo fenomeno di rapida tolleranza e adattamento con scomparsa dell'effetto del farmaco si chiama TACHIFILASSI.

La **cocaina** produce lo stesso risultato, cioè aumenta i livelli di catecolamine fuori dal terminale nervoso, ma agisce impedendo il re up take, la cellula riesce a riempire le vescicole, non va in tolleranza così velocemente come con l'anfetamina.

Da un punto di vista applicativo gli indiretti hanno poche applicazioni. Sono farmaci che inducono il rilascio delle catecolamine, è un rilascio rapido e massiccio che è responsabile della sintomatologia acuta sia periferica che centrale: la sintomatologia del rilascio dell'adrenalina mi fa capire quanto l'adrenalina sia un neurotrasmettitore del sistema neurovegetativo ma anche in diverse aree del cervello perché accanto ai classici segni di iperattività del sistema simpatico (aumento della frequenza, pressione, dilatazione delle pupille, pelle d'oca) si hanno anche profondi effetti centrali (stimolazione, aumento dell'attenzione, riduzione della soglia, riduzione dell'appetito). Questi effetti comportamentali sono dovuti al fatto che il farmaco è entrato nel cervello, cioè ha superato la barriera emato-encefalica per delle caratteristiche di lipofilia; alcuni farmaci simpatico mimetici indiretti sono idrofilici e quindi hanno azione solo in periferia, altri come le anfetamine sono lipofilici e hanno anche effetti centrali, quindi non tutti sono ad azione centrale, solo quelli che sono in grado di passare la barriera ematoencefalica. Quelli ad azione periferica sono soprattutto usati come vasocostrittori nasali e anti decongestionanti oppure come anestetici locali dall'anestesista o dal dentista per ridurre il wash out dell'anestetico da parte del

sangue, con doppio vantaggio: l’anestesia dura più a lungo e sanguina meno. Problema: paziente cardiopatico quando fa l’anestesia si deve o no associare l’adrenalina? Alcune società come quella di cardiologia degli USA hanno fatto uno steatment in cui dice che dato che i livelli di adrenalina insieme all’anestetico locale iniettati dal dentista sono circa simili a quelli che vengono liberati dalla midollare del surrene a riposo in 2 minuti anche se il paziente ha avuto un IMA (?) o è iperteso si *raccomanda* la somministrazione dell’adrenalina perché i vantaggi in termini di efficacia e durata dell’anestesia assicurano che il paziente non sentirà il dolore e poiché il dolore farà schizzare il paziente e la sua midollare che rilascerà quintali di adrenalina, gli effetti sono largamente superiori in presenza di adrenalina. Gli anti decongestionanti sono usati per i raffreddori, ricordando che si tratta di vasocostrittori e l’uso eccessivo può comportare distrofia cutanea e della mucosa nasale che arriva fino alla perforazione del setto nasale che è uno dei sintomi tipici del cocainomane cronico da lungo tempo. Efedrina e pseudo efedrina contenuti in quasi tutti gli spray nasali sono misti, in parte indiretti ma hanno anche una certa azione di agonista diretto sui recettori $\alpha 1$. L’anfetamina è quasi esclusivamente indiretto, passa abbondantemente la barriera ematoencefalica quindi ha una forte azione sul SNC. Molti di questi sono usati per indurre l’anoressia e per la narcolessia. Sapete cosa è la narcolessia? quando ci si addormenta di colpo.

Esempio: il professore fa parte della commissione anti doping della federazione internazionale di automobilismo. Una vota si è presentato un corridore che era fatto di anfetamina e chiedeva l'autorizzazione all'uso di anfetamina perchè lui era un narcolettico (senza preavviso cadeva addormentato); dal punto di vista del doping è corretto che lui usi l'anfetamina per il suo trattamento medico, tu non puoi prendere un farmaco che alteri la tua prestazione a meno che il farmaco lo prendi per la tua malattia. il problema è come si fa a essere narcolettico e contemporaneamente guidare una macchina che va a 400 km/h, pensa al fatto di addormentarsi mentre tu stai correndo.. i giudici di gara per queste ragioni hanno chiesto l'esclusione dalle competizioni di questo pilota.

Molte sostanze presenti nei cibi hanno azione simpaticomimetica o simpaticomimetica indiretta e danno interferenza con diversi trattamenti antiipertensivi e psichiatrici fatti con alcuni farmaci che impediscono il metabolismo delle catecolamine, come i MAO inibitori. Quindi il trattamento farmacologico deve essere associato con attenzione al comportamento del paziente.

Da ricordare che l'anfetamina è utilizzata per curare i bambini con disturbi di iperattività o deficit da attenzione. il problema è che utimamente i casi sono aumentati di più e quindi si è visto il bisogno di fare una diagnosi monto più accurata per poi dare questo farmaco.

i FARMACI DIRETTI sono quelli che agiscono sul recettore e si distinguono in:

- misti cioè legano sia i recettori alfa che beta come adrenalina e noradrenalina;

- agonisti alfa;

-agonisti beta.

Gli agonisti dopaminergici sono utilizzati in una nicchia cardiovascolare, a livello del SNC come morbo di parckinson (patologia caratterizzata da assenza del sistema dopaminergicoo) e per il trattamento di forme di psicosi.

Farmaci non selettivi

- l'**adrealina** viene utilizzata come farmaco nell'anestesia, nelle gravi reazioni allergiche e nell'arresto cardiaco anche se attualmente per l'arresto cardiaco si utilizza defibrillatore indipendentemente se è arresto o fibrillazione. Infatti ci sono delle norme che impongono corsi di pronto intervento per imparare l'uso dei defibrillatori per chi lavora nei grandi esercizi pubblici.

- la **noradrenalina** è moderatamente più attiva sui recettori alfa rispetto ai beta, sicuramente è poco usata perchè quella più usata è l'adrenalina.

- la **dopamina** è un importante strumento per il snc e anche per quello cardiovascolare, per quest'ultimo utilizzata sopratutto a basse dosi per l'attivazione dei recettori dopaminergici di tipo 1 a livello dei vasi renali, mesenterici e coronarici. La vasodilatazione coronarica è importante in corso di infarto o insufficinza coronarica. La vasodilatazione splancnica consente l'irrorazione dell'intestino, quest'ultimo non solo è importante per la digestione ma per il pancreas. Tenete presente che il pancreas è un agglomerato di chimotripsina, tripsina ed enzimi litici, se le cellule pancreatiche non hanno il loro corretto equilibrio energetico e quindi un adeguato apporto d'ossigeno per far funzionare le pompa sodio-potassio atpasi, non riescono a tenere dentro alle vescicole gli enzimi epatici e finiscono che si autodistruggono: è ciò che succede nell'insufficenza vascolare splancnica in cui il pancreas e lo stomaco e l'intestino si autodigeriscono e molti prodotti di questa digestione vanno in giro e sono potentemente cardiotossici e quindi hanno una fortissima attività depressoria sul sistema cardiocircolatorio.

La signora che dice di non andare in acqua dopo mangiato è per questo e anche perchè dovendo nuotare il sangue viene mandato ai muscoli e non all'intestino e si rischia di provocare un infarto intestinale con insufficienza cardiaca conseguente.

La vasodilatazione renale serve quando il rene non riesce a filtrare attraverso il rilascio di segnali ormonali affinchè aumenti l'aldosterone; la classica conseguenza di insufficienza renale è l'ipertensione. Se il rene non funziona bene trattiene più acqua in modo che il sangue si gonfi e arrivi più volume da filtrare. La vasodilatazione renale è anch'esso un elemento di aggiustamento perchè consente di mantenere la permeazione glomerulare anche quando magari le condizioni di pressione non sono adeguate.

Ricapitolando quando si usa la dopamina?

- quando devo mandare ossigeno al cuore
- quando devo "tirar sù" rene e intestino
- insufficienza cardiaca congestizia: condizione in cui si trattiene tanta acqua come fenomeno di compenso e la pressione diventa bassissima tanto che non posso far nulla al rene, ultimo tentativo è con una pompata con dopamina.
- shock cardiogeno: la dopamina è uno strumento di urgenza.
- insufficienza cardiaca acuta: la dopamina è uno strumento di urgenza.

A dosi medie la dopamina induce il rilascio di catecolamine e a dosi alte ha effetti eccessivi per cui l'utilizzo si ha quando c'è una bassa gittata cardiaca e bassa perfusione renale come uno shock cardiogeno e ipovolemico.

La **dobutamina** è un composto agonista alfa ma è anche agonista beta e antagonista alfa. Gli effetti dipendono dalla dose sul cuore e sui vasi periferici. Complessivamente l'effetto è di vasodilatazione con riduzione del post carico e quindi riduzione del lavoro al cuore. È un farmaco di ultima scelta, si dà nelle crisi ipertensive ma è un farmaco che si usa poco.

Selettivi

AGONISTI ALFA1

sono strettamente legati all'aumento della concentrazione del calcio quindi vasocostrizione mentre per il cuore poco niente: l'effetto finale è l'aumento delle resistenze periferiche e quindi può servire per aumentare la pressione.

i farmaci sono:

- **fenilefrina**: usato anche per le diete dimagranti per gli effetti indiretti

- **midoladrina**: utilizzato in pazienti con insufficienza autonomica, cioè i pazienti hanno problemi di regolazione cardiovascolare con il SNA che funziona male. E’ utilizzato anche in pazienti con ipotensione posturale cioè per mancato funzionamento del sistema ortosimpatico per cui viene a mancare il regolamento pressorio nel passaggio da supino a in piedi. Il rischio è che il farmaco sia troppo forte nel passaggio del paziente da sdraiato a in piedi determinando ipertensione.

In generale sono utilizzati per:

-controllo dell'emorragia locale come anche l'adrenalina.

- co-somministrazione con anestetici locali come con l'adrenalina

- decongestionante mucose: spettro d'azione simile al simpaticomimetici indiretti

- ipotensione tranne il caso sopra menzionato.

-shock: ricordatevi che quando la pressione è a terra l'ultima cosa che serve è stimolare i recettori alfa perchè il nostro sistema cardiovascolare è un sistema che è ipercontrollato con l'insieme dei suoi riflessi finalizzati a mantenere la vascolarizzazione del cervello, rene, surrene e nel cuore.

Quando uno sta male e si sente girare la testa cosa fa? cade per terra. in questo modo non ci sono più problemi di gravità. Questo è un adattamento alla mancanza di forza del cuore per mandare sangue al cervello. quando una persona è svenuta la prima cosa da fare è alzargli le gambe per aiutare il sangue ad andare al cervello. in queste situazioni la midollare del surrene sta liberando moltissima adrenalina per la vasocostrizione.

Agonisti α

Ricordate che questi recettori sono nelle terminazioni nervose simpatiche come autorecettori cioè quei recettori messi sulla membrana che quando sono stimolati inviano segnali inibitori per il

rilascio di altra adrenalina. quindi sono recettori che riducono l'attività del simpatico. questi recettori sono utili per regolare la pressione e il sistema cardiocircolatorio in generale.

Questi recettori sono abbondanti sopratutto in alcune aree del cervello, in particolare in 2 aeree: l'area vasomotoria che è nella zona ipotalamia ed encefalica e il nucleo coeruleus: entrambe sono aree fondamentali per l'output adrenergico cioè questi segnali che devo andare dal sistema simpatico attraverso i neuroni pregangliari e postgangliari al simpatico. Questi recettori esercitano un'azione inibitoria di fatto inibiscono il tono ortosimpatico.

Il nucleo coeruleus è un'area molto coinvolta nella generazione della crisi di astinenza dell'eroinomane. Quando l'eroinomane va in astinenza questo nucleo è iperattivo e produce la manifestazione fisica mentre il cocainomane quando va in crisi di astinenza non ha manifestazioni fisiche (magari diventa mezzo pazzo). L'eroinomane invece si sente morire, ha una crisi ipertensiva, tachicardia, angoscia, ipereccitazione, tutte situazioni che possono diventare rischiose per la vita.

I farmaci sono: **clonidina**, **guanabenz** e **guanfacina**. Questi oltre ad avere un significato in cardiologia come inibitori del sistema cardiovascolare e quindi controllo dell'ipertensione, hanno anche un significato e un utilizzo nel tossicodipendenza non solo da eroina ma anche da alcool e nicotina. Altro utilizzo è per il glaucoma, perchè si è visto che i recettori alfa 2 sono coinvolti nella produzione di liquor ma poi si è visto che i recettori adrenergici beta sono più importanti. Il glaucoma è una patologia oculare causata da ipertensione oculare dovuta a tante cause. Indipendentemente dalla causa c'è troppo liquor e quindi la pressione dentro al bulbo sale e provoca danneggiamenti alla retina e cristallino. Può causare cecità.

La **metildopa** ha lo stesso ruolo dei farmaci sopra citati e lega i recettori alfa 2 ma lo fa in un modo diverso: creando un falso trasmettitore. Il farmaco viene captato e trasformato in alfametilnoradrenalina che è agonista alfa e viene scambiato come fosse adrenalina e questa è spiccatamente alfa2 agonista.

Tutti questi farmaci riducono la gettata cardiaca e il ritmo cardiaco per riduzione dell'output del sistema adrenergico ma non hanno effetto sulle risposte adrenergiche da esercizio.

Con la **clonidina** e **guanfacina** possono comparire dei problemi come sedazione, xerostomia (bocca secca), bradicardia e disfunzioni sessuali. apparentemente non sono grandi sintomi ma pensate per una terapia protratta in un 40enne sono pesanti.

La **apraclonidina** e la **bromonidina** sono stati sviluppati per uso oftalmico,quindi per il glaucoma e hanno pochissimi effetti cardiovascolari.

Agonisti β

Sono farmaci attivi sul recettori beta quindi dal punto di vista medico serve stimolarli quando si hanno problemi respiratori, in linea di massa non ci serve a niente stimolare il cuore a meno che non ci sia arresto cardiaco o bradicardia grave. I farmaci BETA NON SELETTIVI sono farmaci vecchi e con uso limitato. L'**isoproterenolo** era il farmaco utilizzato in pronto soccorso quando i defibrillatori non erano a portata di mano. La **dobutamide** ha un uso quasi esclusivo per la cardiochirurgia.

BETA SELETTIVI cioè i farmaci che agiscono sui recettori beta 2 che sono i recettori bronchiali.

Da ricordare che per i farmacologi un farmaco è selettivo se lega un recettore e non un altro a mille volte la concentrazione saturante dell'uno, cioè io uso un farmaco che satura i recettori x e uso una concentrazione mille volte superiore a questa e comunque non tocco i recettori y.

Per i beta 2 la selettività è dell'ordine di 30-40 volte. quindi uso la dose che mi serve per saturare i recettori beta 2 ma se la uso 30 volte di più attivo anche i recettori beta1 quindi la selettività non è un granchè.

I farmaci si distinguono in base alla durata d'azione.

Albuterolo è il farmaco più famoso di tutti e **salbutamolo** in italia è il ventolin (farmaco per eccellenza dell'asmatico).

Il **salmeterolo** è il farmaco a più lunga durata d'azione ed è anche più selettivo dell'albuterolo.

La differenza tra a lunga e breve durata d'azione: se ho un attacco acuto è utile quello a breve durata d'azione (è inutile usare un farmaco che dura a lungo) ma l'asma con attacchi saltuari (non è la forma più tipica) è utile avere broncodilatazione. Anzi a partire da una certa età in poi l'asma è un vero problema e si chiama BPCO (broncopneumopatia ostruttiva cronica). La BPCO è una patologia subdola, età dipendente, favorita da fumo, enfisema e da tante cose. Non è asma nel vero senso della parola ma produce i segni dell'asma che sono fischi e rantoli in espirazione ed è un ostacolo al benessere del paziente che si sente in insufficienza respiratoria.

Per un asmatico che va in un campo di grano e si rende conto che è allergico e gli viene un attacco di colpo gli serve solo una pompata di efficacia immediata, si capisce come sia relativamente inutile che questa pompata duri a lungo perchè basta che il paziente vada via dal campo e si metta nelle condizioni di stare meglio. Se l'attacco dura più a lungo o la patologia non è asmatica allergica si ha il bisogno di un mantenimento più prolungato della broncodilatazione e quindi entrano in gioco i farmaci a più lunga durata d'azione e una selettività maggiore: si usano fondamentalmente i composti lipofilici che vanno male negli nebulizzatori e quindi sono somministrati per via orale e sono sinergici ad altri trattamenti usati per indurre broncodilatazione. Questi farmaci hanno un problema legato in parte alla tachicardia e in parte legato a una serie di reazioni allergiche che non sono esclusivamente di tipo cardiaco tale per cui sono state fatte diversi studi per capire se è meglio che vado sul salbutamolo o è meglio che inizio subito con quelli a lunga durata d'azione. Mi basta dire che il paziente è asmatico acuto e vado con il salbutamolo o vado addirittura con il farmaco a lunga durata d'azione così sono sicuro che lui è protetto non solo quando esce dal campo di grano ma anche quando se ne torna a casa? In realtà si è visto che gli efffetti collaterali legati ai farmaci a lunga durata d'azione cominciavano ad essere troppo forti che alla fine si è arrivati alla raccomandazione in linea di massima i farmaci a lunga durata d'azione sono da utilizzare nella BPCO come monoterapia se invece si pensa di voler associare con i corticosteroidi, prima si fa il tentativo di usare i corticosteroidi con il salbutamolo e se non si risole si passa all'associazione dei farmaci a lunga durata d'azione. Per gli effetti collaterali si è deciso che i farmaci a lunga durata d'azione non si utilizzano per gli attacchi acuti asmatici.

La **ritodrina** è stata sviluppata per l'attività rilassante uterina poichè i recettroi beta 2 sono abbondanti nell'utero.

Le complicanze centrali, periferiche e muscolari: ansia e tremori, tachicardia, ovviamente non nell'asma grave perchè un paziente che non respira ha la tachicardia per altri motivi, c'è una riduzione della pressione di ossigeno atriale per vasodilatazione del territorio polmonare generata

dalla stimolazione beta2, e aumento del glucosio, del lattato e degli acidi grassi liberi nel sangue e infine la riduzione del potassio.

Tolleranza: fenomeno per cui il farmaco smette di essere efficace cioè parliamo del fenomeno di adattamento che è particolarmente spiccato per i recettori beta; significa che c'è down-regulation cioè desensibilizzazione con meccanismo di adattamento rapido cioè c'è la regolazione del numero di recettori esposti sulla superficie della cellula con meccanismo di regolazione che una cellula mette in atto quando la stimolazione è troppo prolungata...la stimolazione cronica eccessiva determina una riduzione dei recettori beta sulle cellule della muscolatura liscia e quindi determinano una riduzione della capacità del farmaco di agire. Immaginate l'inizio di un attacco asmatico acuto: l'individuo inizia a sentire gli occhi che bruciano un pochino, starnuti e mano a mano costrizione delle vie respiratorie.. l'individuo si spaventa e la midollare del surrene rilascia adrenalina che serve per stimolare i bronchi che si devono dilatare; i bronchi non si dilatano e l'adrenalina continua a salire perchè lo spavento continua a salire e segue tachicardia, sudorazione e panico e l'adrenalina continua a salire e i bronchi sebbene con tutta questa adrenalina non si dilatano mantenendo l'attacco asmatico. Con tutta questa adrenalina i recettori vanno in desensibilizzazione e se dall'inizio dell'attacco asmatico è passato troppo tempo io ho esposto i miei bronchi a ore e ore di adrenalina cronica al momento che uso il farmaco non ho più recettori e l'efficacia del farmaco decade. Quindi nell'attacco di asma è importante ritardare la terapia.

La tolleranza si sviluppa meno con i farmaci a lunga durata d'azione perchè sono attivi ad una concentraione più bassa, però sono meno risolutivi sull'attacco acuto.

ricapitolando:

-attacco acuto: salbutamolo

-terapia cronica: salmeterolo o arformoterolo.

il formoterolo è il farmaco per l'asma notturno.

Lezione di Farmacologia (sem1) del 13/12/2012 (1)

Lezione di Farmacologia del 13/12/12

Professore Fumagalli

Sbobinatore: Valentina Spigo

Revisore: Riccardo Zanoni

FARMACI PER IL SISTEMA RESPIRATORIO

Ci concentreremo oggi sulla farmacologia applicabile alle patologie del sistema polmonare, che sono fondamentalmente patologie di tipo bronchiale, nel senso che l'occlusione dei piccoli bronchi, per motivi meccanici, causa una difficoltà respiratoria nel passaggio d' aria soprattutto nell'espirazione.

Mentre l'infiammazione dei bronchi di grosso calibro e della trachea comunque lascia aperta molta strada, nelle infiammazioni a livello dei bronchi (*più piccoli Ndr*) la situazione è molto più difficile, sensibile, poiché basta una live iperplasia da essudato infiammatorio per esempio (ma basta anche poco secreto), che il lume del bronco diventa molto piccolo, e quindi una difficoltà nel passaggio di aria.

Caratteristica sintomatologica è la presenza di fischi, rumori.

Quindi con infiammazioni più basse, a livello polmonare si sentono crepitii simili al rumore provocato dalla carta (*accartocciata Ndr)*, si dice appunto "crepitio umido" poiché si capisce che si tratta di un crepitio d'acqua, mentre con l'ostruzione bronchiolare, tipo l'asma, si sentono invece fischi in fase espiratoria. Quindi relativamente semplice da diagnosticare una volta che ci si è sintonizzati e si è in grado di distinguere un fischio da un mormorio.

Cosa si può fare con i farmaci?

- Si può modulare il calibro dei bronchioli (Broncodilatatori)
- Si può modulare l'escrezione e l'espettorazione
- Si può intervenire sullo stato infiam1matorio.

Noi ci concentreremo sui primi due.

Vi ricordo che ci sono tratti dell'albero respiratorio che non sono modulabili più di tanto in calibro perchè hanno una struttura rigida, cartilaginea. Ma dal bronchiolo in giù la struttura della parete bronchiale è composta fondamentalmente da cellule muscolari lisce, ed è priva di parete a livello alveolare dove c'è solo epitelio. Quindi il calibro può essere regolato solo dove ci sono cellule muscolari lisce quindi fondamentalmente a livello dei piccoli bronchi.

1 - MODULAZIONE DEL CALIBRO DEI BRONCHI

I broncodilatatori sono:

- Beta- agonisti (che abbiamo già visto)
- Farmaci anti-muscarinici
- Inibitori della fosfodiesterasi

FARMACI β-AGONISTI

Sono quei farmaci attivi sui recettori β2 che sono i recettori per l'adrenalina presenti sulle cellule muscolari lisce. Il fatto di essere un β2 invece di un β1 favorisce l'approccio terapeutico in quanto consente di produrre un effetto utile, la broncodilatazione, senza esagerare nell'indurre l'altro effetto atteso dalla stimolazione del sistema adrenergico, che è la tachicardia (*cioè quando si stimola β1 presente sui miocardiociti Ndr*)

FARMACI ANTI-MUSCARINICI:

Il termine anti-muscarinico (anti colinergico) sta a indicare farmaci diretti contro il recettore per l'acetilcolina di tipo 'recettore accoppiato a proteina G', quindi non recettore-canale come quello presente nella giunzione neuro muscolare ma recettori che sono distribuiti abbondantemente sia nel cervello che nel sistema nervoso vegetativo, fondamentalmente sono quelli che mediano l'effetto del nervo vago, componente parasimpatica del sistema vegetativo. Mentre l'**ortosimpatico** secerne catecolamine, il **parasimpatico** secerne prevalentemente acetilcolina e questi sono farmaci bloccanti questo tipo di recettore.

C'è da fare una piccola inquadratura di cosa significhi Catecolamine nel sistema polmonare perché la cosa strana è che mentre ci sono i recettori sulle cellule muscolari lisce dei bronchioli, non ci sono i nervi che liberino il neurotrasmettitore.

Le fibre simpatiche provengono dal ganglio della catena laterovertebrale o dal ganglio Celiaco o dal ganglio Mesenterico superiore e inferiore dove partono poi i rami comunicanti bianchi, che si collegano al neurone postgangliare (che per l'ortosimpatico non costituisce un fascio nervoso come per il parasimpatico).

L'ortosimpatico infatti ha tanti rametti che si distribuiscono ai tessuti lungo i vasi; quindi il vaso porta con se il rametto dell'ortosimpatico.

Lo stesso accade nel polmone, le fibre simpatiche sono presenti sui vasi e innervano le ghiandole ma non sono presenti nella cellula muscolare liscia, dunque non fanno sinapsi con le cellule muscolari lisce per cui rimane la questione di chi sia il responsabile della stimolazione dei bronchioli.

Innanzitutto c'è da dire che queste fibre presenti sui vasi dell'ortosimpatico, oltre a liberare noradrenalina, liberano altre sostanze come neuropeptidi che vengono rilasciati insieme alla noradrenalina e che hanno anche loro effetti sui vasi e sui bronchi. Ma soprattutto ci si domanda: come mai ci sono recettori β adrenergici sulle cellule muscolari lisce se non c'è il nervo?

Perché l'adrenalina è anche un ormone liberato dalla midollare del surrene!

Quindi l'effetto broncodilatatorio è presente in seguito a stress, stimolazione ortosimpatica, non perché il nervetto si libera ma perché l'adrenalina che proviene dalla midollare del surrene e che è messa in circolo, come un ormone, agisce sul tessuto muscolare. Questo permette di capire che evidentemente il sistema β adrenergico nel polmone non è proprio un sistema di fine regolazione ma di **regolazione massiccia**, cioè interviene quando ci spaventiamo, quando buttiamo fuori quantità importanti di adrenalina.

Quindi normalmente, quando non c'è adrenalina, non c'è neanche broncodilatazione il che significa che siccome questi recettori normalmente non sono stimolati, in condizioni di riposo l'adrenalina in circolo è molto scarsa, quindi i farmaci che bloccano quel recettore non provocano niente.

La broncocostrizione che noi potremmo imputare ad un β-bloccante non è una broncocostrizione che avviene in condizioni di riposo assoluto o per lo meno in un individuo normale.

Quello che succede è che nel soggetto asmatico aumenta la concentrazione di adrenalina e soprattutto quello che si vede è la presenza di un coinvolgimento del sistema parasimapatico (*che induce broncostrizione Ndr*)

Il calibro dei bronchi è regolato quindi:

- **dall'ortosimpatico,** attraverso un sistema endocrino (l'adrenalina che proviene dalla midollare del surrene tramite il circolo)
- **dal sistema locale parasimpatic**o che agisce con l'acetilcolina ed attua costrizione.

L'adrenalina attraverso recettori β influisce anche sul rilascio di acetilcolina, con **azione inibitoria**, ma quello che soprattutto è importante, motivo per cui affronteremo i farmaci anti-muscarinici o anti-colinergici è che l'acetilcolina come mediatore del nervo vago può fare **broncocostrizione**. Quindi usando un bloccante dell'acetilcolina si riduce la broncocostrizione.

L'ASMA

Nel paziente asmatico vi è tutta una serie di indicazioni che suggeriscono che la situazione è davvero molto più complessa di quanto non sembri.

Nei pazienti asmatici cronici c'è un'alterata funzionalità dei recettori β2, probabilmente c'è una downregulation (*abbassamento di funzione Ndr*) dovuta alla continua cronica stimolazione.

Ma soprattutto c'è anche un coinvolgimento esagerato di altri sistemi di neurotrasmettitori.

Per cui l'asma non è sono un problema allergico, non è soltanto una risposta ad un allergene, ma è anche qualcos'altro.

SISTEMA COLINERGICO POLMONARE

[slide 46]

È costituito da fibre colinergiche che innervano la trachea e regolano la secrezione di muco al suo interno e sono presenti recettori postsinaptici sulle cellule muscolari lisce, **M3**, che sentono l'acetilcolina ed attuano broncocostrizione.

Questo serve in condizione normale tramite reazioni di adattamento, per esempio:

- in situazioni di grosse quantità di polvere, dove avremo deposizione di muco per fermare il suo ingresso lungo la trachea, lungo i bronchi al di là del naso;
- in caso di aria molto fredda, si riduce il passaggio di aria e la si umidifica il più possibile;

Tutto ciò fa sì che l'aria che arrivi alle camere alveolari non sia qualcosa di ghiacciato o sporco, ma qualcosa di quanto più filtrato. Quindi si ha un continuo controllo del calibro del bronco.

Riassumendo, il parasimpatico controlla chiusura e secrezione di muco mediante questi recettori M3.

Negli asmatici il sistema parasimapatico è abbastanza fuori controllo, mentre il tono bronchiale è aumentato insieme al tono del parasimpatico, che sul cuore causa bradicardia. La bradicardia predispone ad aritmia, i pazienti asmatici hanno frequentemente aritmie sinusali notturne, si amplia il ritmo della manovra di Valsalva.

Questi effetti sono stimolati da sistemi sensitivi, indotti da riniti, da reflusso gastro-esofageo, quindi le concause di un'alterazione del tono bronchiale sono molte.

Così come sulle cellule muscolari lisce ci sono recettori postsinaptici M3 che sentono acetilcolina, sui terminali nervosi che liberano acetilcolina ci sono recettori presinaptici sensibili sia all'Ach che all'adrenalina e a peptidi:

1. **M2** (*che legano acetilcolina Ndr*),
2. **β** (*che legano adrenalina Ndr*)
3. **VIPr** *(recettori per peptide VIP Ndr*).

(*questi recettori sono implicati nella regolazione locale dell'acetilcolina Ndr*)

Dunque il controllo del parasimpatico non è soltanto centrale ma è anche periferico a livello locale, cioè la regolazione della capacità del terminale nervoso di rilasciare il neurotrasmettitore.

Controllo che in parte è fatto dall'acetilcolina stessa ma in parte è effettuato anche dall'adrenalina, e da peptici che sono coliberati sia dalla componente orto- che parasimpatica.

I **farmaci anti-muscarinici** che bloccano sia il recettore postsinaptico **M3**, che quello presinaptico **M2**aumentano il rilascio di Ach, perchè appunto bloccano questo recettore (M2) inibitorio sul rilascio della molecola.

Invece gli **agonisti specifici di M2**, che attivano questo recettore, inibiscono il rilascio di Ach e questo permette di fare un controllo sul broncospasmo riflesso.

Giocando sulla specificità, posso utilizzare un anti-colinergico per bloccare la risposta alla sensibilità delle cellule muscolari lisce, però devo stare attento perché se blocco il recettore M3 e allo stesso tempo blocco il recettore inibitorio M2 aumento il rilascio dell'Ach, quindi effettuo una competizione sull'Ach antagonista, su M3 non so mai cosa succede.

(discorso contorto per dire che anti-muscarinici aspecifici incrementano il rilascio di Ach agendo su M2 ma è difficile poi mantenere i controlli sui risvolti a livello di M3 Ndr)

Per cui la farmacologia deva andare in modo specifico, per creare agonisti per M2 usati in trattamenti per asma, o bloccanti per M3 per bloccare la contrazione bronchiolare.

Si ritiene che i recettori muscarinici siano alterati nell'asma e siano addirittura responsabili dell'attacco asmatico in quanto la loro funzione andrebbe persa a causa della reazione allergica soprattutto da parte degli eosinofili.

Nei gangli, molto più in alto, c'è un terzo tipo di recettore, che è **M**1 e questo è utile in quanto interviene bloccando tali reazioni nell'asma non allergica.

È necessario comprendere come alla base di una patologia le cose non siano del tutto semplici, e come, molte volte, questa complessità sia necessaria per comprendere la patologia stessa.

L'asma e la broncocostrizione, che sono patologie rilevanti e fondamentali alla sopravvivenza hanno dunque un certo grado di complessità che può essere ragionata e curata mediante una serie di strumenti terapeutici. Ogni tipo di asma richiede un tipo specifico di approccio terapeutico.

Recettori Muscarinici: si chiamano così i recettori per l'Ach accoppiati a proteina G, il cui nome prende origine dalla loro sensibilità per un fungo che si chiama Muscardia (fungo velenoso che contiene questo principio).

Dal punto di vista farmacologico e di biologia molecolare se ne conoscono almeno sette sottotipi e come si può vedere sono diversi tra di loro per la distribuzione:

- **M1** e **M4** presenti nel SNC (*ma anche nello stomaco e in alcune ghiandole esocrine Ndr*)
- **M3** lo abbiamo visto sull'albero bronchiale, nel sistema periferico, su ghiandole esocrine, su muscoli lisci anche a livello intestinale.
- ***M2** invece è presente nella muscolatura cardiaca e nel tessuto di conduzione, nella muscolatura liscia e anche nelle sinapsi a livello presinpatico – fonte medicinapertutti.it - Ndr*

La farmacologia non è brillante in termini di agonisti, vi sono pochi agonisti selettivi, al contrario vi è una farmacologia abbastanza ricca in termini di antagonisti che sono relativamente selettivi con la **pirenzepina** (lega M1) e altri.
* viene sottolineata la Pirenzepina: farmaco (sfigato) utilizzato abbondantemente negli anni '70 per curare l'**ulcera gastrica**. Altamente efficace rispetto all'operazione chirurgica prima di allora abbondantemente praticata, ma sicuramente meno efficace degli antistaminici (istamina stimola secrezione di acido gastrico). La Pirenzepina è un farmaco altamente selettivo a livello di M1, recettore muscarinico molto abbondante a livello gastrico, legato a proteine G. Per cui pur avendo un potenziale rivoluzionario nella cura per la patologia gastrica, non fu tale poiché la vera classe rivoluzionaria fu quella degli **antistaminici**, perchè hanno pochi effetti collaterali.

Il sistema muscarinico ancor più del sistema nicotinico è coinvolto in numerose importanti funzioni a livello del SNC.

Il **morbo di Alzheimer**, malattia neurodegenerativa caratterizzata come sintomatologia da perdita di capacità cognitiva e, in particolare, da perdita di memoria. Prima che compaiano i grandi sintomi, la patologia si manifesta come una Mind cognitive impairment, una situazione cioè di piccoli difetti che preannunciano l'Alzheimer. Questi individui manifestano come prima cosa una perdita del sistema colinergico nel SNC : si riducono enormemente i neuroni colinergici e ciò ci permette di comprendere come questo sistema, cioè l'acetilcolina, attraverso i suoi recettori nicotinici e muscarinici gioca un ruolo importante nei meccanismi di memoria. È questo il motivo per cui la farmacologia si sta focalizzando sui farmaci inotropi, che aumentano la capacità di memoria, vale a dire tutti quei farmaci che intervengono sul sistema colinergico, per lo più sulla capacità di produrre Ach, più che sull'attivazione dei recettori. Questo permette di comprendere come il sistema colinergico, nella sua componente nicotinica e muscarinica, sia importante nei processi mnemonici e cognitivi.

Il sistema colinergico è anche importante per alcune zone destinate al controllo fine motorio, e vedrete terapie colinergiche associate a terapie con **dopamina** nel **morbo di Parkinson** dove c'è un difetto dei sistemi di controllo motorio.

Nell'approccio su un paziente normale c'è l'utilizzo di una farmacologia muscarinica fondamentalmente di tipo periferico. Invece sul sistema nervoso centrale, al di là del morbo di Parkinson, c'è poco da fare.

Si usano a livello centrale farmaci attivi sul sistema colinergico nelle fasi iniziali dell'Alzheimer proprio per ritardarne la progressione, però in linea di massima la pneumo-farmacologia medica è molto periferica.

Sulla muscolatura liscia i recettori muscarinici mediano la contrazione a livello di intestino, vie aeree, vescica (muscolo detrusore) e occhio (miosi).

Sulle pareti vasali, il sistema muscarinico, in diversi distretti, induce vasodilatazione. L'effetto non è diretto ma è dovuto dalla liberazione, indotta dall'Ach, di un fattore che stimola le cellule vasali a produrre ossido d'azoto (o nitrossido NO). Quindi attraverso il recettore colinergico la cellula endoteliale attiva la sua cascata interna enzimatica e produce ossido d'azoto, che è un potente vasodilatatore e funge da secondo messaggero (o primo messaggero) funzionale alla connessione intracellulare e importante in diversi eventi, dalla memoria al controllo del tono della muscolatura liscia.

Il parasimapatico serve per digerire, stimola la salivazione, la vasodilatazione intestinale, l'attivazione della peristalsi gastrointestinale e delle secrezioni digestive, il tutto mediante innervazione vagale o segnalazioni di altro genere che alla fine rilasciano Ach che viene sentita dai recettori post-sinaptici presenti sulle ghiandole e sulle cellule muscolari lisce di intestino e vasi.

Quando bisogna agire sulla muscolatura liscia farmacologicamente?

- Quando c'è un'*atonia intestinale*
- quando c'è *ritenzione urinaria* (per esempio prostata);
- in caso di *glaucoma*: patologia di ipertensione endoculare spesso legata a difficoltà di comunicazione del circolo del liquor tra la camera anteriore rispetto alla posteriore ostacolata dalla midriasi. Questa comunicazione è una sorta di filtraggio che avviene alla base dell'iride e di conseguenza quando il muscolo ciliare è del tutto contratto avviene lo schiacciamento dei pori di comunicazione e non c'è filtrazione. Per cui uno strumento farmacologico di intervento nel glaucoma è quello di indurre miosi in modo che questi sistemi di filtraggio tra le due camere siano aperti. Quindi gli agonisti sono usati come miotici nel glaucoma ad angolo stretto;
- sul *cuore* gli agonisti inducono bradicardia per un effetto diretto sulle cellule del nodo del seno che sono le cellule pacemaker del cuore;
- ci sono anche effetti di rallentamento della conduzione soprattutto a livello atrio-ventricolare che predispone all'insorgenza di *extrasistoli* ed è per questo che normalmente è percepibile tale fenomeno, considerato fisiologico fino ad un certo numero introno ai 3000 al giorno. Quando queste extrasistoli diventano più importanti allora si tratta di patologia aritmica.

Queste sono predisposte dal rallentamento della conduzione atrio-ventricolare, e il periodo di maggior incidenza del fenomeno è sicuramente dopo un pasto abbondante dove il parasimpatico è notevolmente attivo e il cuore va in bradicardia rispetto alle sue esigenze di lavoro.

La stimolazione vagale è utile per frenare le tachicardie sopraventricolari parossistiche, che nascono soprattutto quando l'atrio ha perso le sue capacità ritmiche, come in fibrillazione striale, che spesso sono appunto parossistiche in quanto l'individuo sta bene nonostante una fibrillazione striale o un'anomalia nel battito, e il battito improvvisamente sale senza nessun motivo.

Quindi gli effetti cardiaci sono di bradicardia, di induzione di aritmia, riduzione della forza di contrazione e gli effetti sulla secrezione sono l'aumento della salivazione e della secrezione acida.

Dati questi effetti, escluso un blocco intestinale o problemi di diuresi, si tratta di una farmacologia dalla scarsissima utilità medica.

Più interessante è la farmacologia dei bloccanti. Ce ne sono sia di naturali che di sintetici e il più famoso di tutti, il prototipo, è l'**atropina**, ricavata dalla pianta Atropa belladonna.

Viene utilizzata dall'oculista per provocare midriasi, anche se non si utilizza più l'atropina ma si usano derivati con un'efficacia molto limitata nel tempo, con un'emivita d'azione molto breve.

Nel sistema cardiocircolatorio gli antimuscarinici producono bradicardia che è soprattutto di tipo centrale, al contrario di quanto ci si possa aspettare. La tachicardia infatti viene dopo. Abbiamo prima una sensibilità dovuta al blocco di recettori muscarinici di tipo centrale (*e quindi si ha bradicardia NdR*), poi a dosi più alte si ha tachicardia.

I target fondamentali di antimuscarinici quali gli **antispastici** – tipo buscopan, che è derivato dall'atropina - sono soprattutto le contrazioni della muscolatura liscia del sistema gastrointestinale. Un loro uso eccessivo provoca alterazioni del ritmo e midriasi (in pazienti con glaucoma evitiamo di somministrarli) .

Nel SNC la **scopolamina** così come l'**atropina** sono degli allucinogeni che producono sedazione, confusione, amnesia, psicosi, alterazioni della memoria, tutti problemi che compaiono nell'anziano che fa uso abbastanza abbondante di antispastici. Le alterazioni della memoria possono essere indotte da questa classe di farmaci.

La tossicità, soprattutto di tipo alimentare, compare più facilmente nei bambini e il trattamento sono gli **anticolinesterasici**, trattamento acompetitivo mediante un antagonista che fa in modo che l'agonista naturale dell'acetilcolina sia più abbondante.

C'è un uso però molto specialistico in tossicologia (soprattutto al pronto soccorso) degli avvelenamenti da anticolinesterasici.

In anestesia si usano soprattutto in preanastesia per ridurre le secrezioni bronchiali.

In condizioni di ipermotilità gastrointestinali, ovviamente c'è pericolo di ritenzione urinaria nei prostatici;

Usati anche come anti ulcera (pirenzepina).

E poi c'è tutta una serie di effetti anti-colinesterasici non dovuti a farmaci anticolinesterasici ma a carico di altri farmaci come antistaminici per esempio, che hanno tutta una serie di effetti con attività anticolinergica in grado di bloccare il recettore muscarinici (usati sia per allergia ma anche contro il mal di macchina)

Anche per questo motivo come attività anticolinergica, alcuni decongestionanti nasali hanno farmaci di tipo antimuscarinico.

Più interessante l'uso in patologie del SNC come il morbo di Parkinson.

Dunque farmaci attivi sui recettori muscarinici possono essere utili come broncodilatatori ricordando la complessità di avere sia recettori **M3**, che bloccati inducono dilatazione, ma avere anche recettori **β2** che controllano negativamente il rilascio di Ach, che bloccati vanno ad aumentare i livelli del neurotrasmettitore e quindi inducono broncocostrizione.

È rimasto però un problema da risolvere: sono presenti i recettori **β2** ma non sono presenti i nervi per effettuare broncodilatazione. Di fatto la broncodilatazione avviene grazie all'adrenalina circolante mentre, mentre con il parasimpatico abbiamo visto c'è una fitta innervazione, c'è il recettore presinaptico **M2**, c'è il recettore postsinaptico **M3**, c'è il recettore postgangliare **M1**. Questa è una struttura molto complicata che presenta questi 'rametti' di innervazione parasimpatica che permettono una regolazione finissima del calibro bronchiale in modo da poter bloccare e chiudere determinati bronchioli e mantenere pervi altri.

Con il sistema parasimpatico muscarinico ho gli strumenti per chiudere, mentre per aprire i bronchi ho il sistema endocrino che usa l'adrenalina cha arriva dal sangue e apre in modo generalizzato, non specifico (*non agisce su un singolo bronchiolo come può fare il sistema parasimpatico Ndr*). Quindi esiste un sistema ENDOCRINO (nè adrenergico, nè colinergico) che provvede alla broncodilatazione.

Questi neuroni non liberano adrenalina né Ach, ma liberano tutta un'altra serie di composti. Il più importante di tutti è l'**ossido d'azoto** che ha un suo sistema di traduzione del segnale che sulle cellule muscolari lisce significa 'rilassamento'.

L'ossido d'azoto è un potente broncodilatatore ed è anche un potente vasodilatatore coinvolto in alcune patologie vascolari, come vedremo in seguito.

Oltre all'ossido d'azoto questi neuroni contengono un peptide, **VIP** (Vaso Intestinal Peptide), che porta a broncodilatazione. È molto più attivo in alto che in basso e si ritiene che la perdita di questo sistema si a una delle concause, non tanto dell'asma, quanto della broncopatia cronica ostruttiva.

INIBITORI DELLA FOSFODIESTERASI

Più che andare a finire sugli agonisti e antagonisti di questa sostanza, la farmacologia ha avuto un'altra evoluzione. Come attua la broncodilatazione? Qual è il secondo messaggero che fa rilassare le cellule muscolari lisce? L' cAMP! Infatti, invece di andare a bloccare i recettori, che si presentano in numero abbondante e richiederebbero dunque numerosi farmaci per produrre broncodilatazione, andiamo sul secondo messaggero l'cAMP, che posso aumentare se riduco la sua degradazione. La degradazione dell'cAMP è causata dalle fosfodiesterasi; quindi gli inibitori della fosfodiesterasi sono da molti anni inseriti nella terapia delle patologie bronco ostruttive polmonari proprio per la loro capacità di produrre broncodilatazione nonché vasodilatazione banalmente prolungando la vita dell'cAMP.

I primi composti sono le **Xantine**, la **Teofillina** (estratta dal the), l'**Aminofillina**. Questi sono inibitori delle fosfodiesterasi, in realtà più recentemente si è visto che sono anche attivatori di altri recettori. Comunque sua sono anche potenti dilatatori della muscolatura liscia sia vasale che del territorio polmonare. Per cui questi farmaci sono molto utilizzati nella situazione estrema ed incontrollabile di asma.

C'è una scala: si parte con il **β2**, si fa seguire qualcosa per ridurre l'infiammazione, se non si hanno riscontri positivi si somministra **Teofillina**. Ricordiamo i forti effetti anche vascolari, sono dunque da somministrare in ambiente controllato, generalmente in ospedale, poiché la pressione del paziente cala drasticamente data la broncodilatazione.

La cosa più intreressante è che le fosfodiesterasi esistono in diverse forme.

Alcune sono selettive nel cuore e dunque sono farmaci che bloccano le fosfodiesterasi cardiache producendo nella cellula muscolare striata l'aumento di cAMP provocando aumento della forza di contrazione e quindi azione inotropa positiva. Invece altri farmaci inibiscono la fosfodiesterasi di vasi di alcuni territori (*pistolo Ndr*) come il Viagra che è un potente vasodilatatore soprattutto del distretto venoso pelvico.

2 - MODULAZIONE DELL'ESCREZIONE E DEL MUCO

Non è argomento molto significativo ma comprendono farmaci che si usano in abbondanza.

MUCOLITICI

Carbocisteina, **Mecisteina cloridrato**, sono i mucolitici che sono prescritti con l'intenzione di favorire l'espettorazione riducendo la viscosità delle secrezioni.

Sono composti che contengono gruppi –SH che vengono utilizzati per rompere ponti disolfuro e permettere ai proteoglicani, che costituiscono la maggior parte del muco, di deramificarsi e diventare più fluidi.

Tra l'effetto in vivo e l'effetto in vitro c'è una certa differenza, comunque **Fluimicil** e analoghi sono abbondantemente utilizzati nelle situazioni in cui si ritiene di dover favorire l'espettorazione, quindi l'eliminazione attraverso la tosse di fluidi polmonari e bronchiali.

L'uso di questi farmaci può essere utile in pazienti con broncopneumopatia cronica ostruttiva che soffrono di esacerbazioni gravi.

Invece la semplice umidificazione senza farmaci si fa con drenaggio posturale e rientra nei metodi più tipici per la stimolazione dell'espettorato (*ricorda di fare attenzione a non ustionarsi il volto con i fumi del vapore ! ! Ndr*).

Spesso si usano composti aromatici, eucalipto e derivati del genere, poiché hanno capacità di indurre conforto, non necessariamente di migliorare la permeabilità dei bronchi soprattutto se in ambiente umido. Si utilizzano infatti nebulizzazioni dove generalmente è preferibile l'uso del vapore più che quello della nebulizzazione. La nebulizzazione può essere molto utile per mandare una farmaco in un certo punto.

Per l'uso classico da decongestionanate per aiuto all'espettorazione durante malattie infiammatorie acute delle prime vie respiratorie è molto meglio l'utilizzo del vapore caldo.

SEDATIVI DELLA TOSSE

Li vedremo con gli oppiacei, sono la **Codeina** e il **Destrometorfano**.

3 - MODULAZIONE DELL'INFIAMMAZIONE

Mentre per gli antinfiammatori del sistema polmonare si usano esclusiavemente i **cortisonici**, i classici **FANS**, utili alle vie respiratorie superiori, non sono efficienti su bronchi e bronchioli in quanto per il meccanismo d'azione e per come l'infiammazione è prodotta e regolata all'interno del bronco, questi FANS classici sono peggiorativi nella situazione.

Si raccomanda soprattutto ai bambini piccoli di evitare il trattamento con FANS poiché favoriscono l'insorgenza di broncocostrizione.

Accanto ai corticosteroidi abbiamo il **Cromoglicato** .

Qui di seguito sono presenti una serie di indicazioni terapeutiche.

[slide 59] Nell’asma nei bambini, soprattutto nell’asma cronica di bambini in età scolare:

- **β2 agonisti** in caso di attacchi (urgenza);
- **β2 agonisti** ancora in caso di terapia regolare inalatoria,
- **corticosteroidi** per inalazione o sottoforma di pillola insieme ai **β2 agonisti** sono utilizzati quando la sintomatologia non è breve ma è a lungo termine.

Nell’asma acuta, soprattutto nei bambini, quasi si preferisce intervenire tramite cortisone piuttosto che con i β2 agonisti (*“quasi” riferito al fatto che i corticosteroidi comunque nei bambini possono avere diversi effetti collaterali Ndr*)

Le cose cambiano a seconda del livello di asma.

SISTEMA ADRENERGICO E ANTAGONISTI

Ritorniamo sul sistema adrenergico parlando di antagonisti.

Il sistema adrenergico ha un ruolo fondamentale nelle patologie cardiovascolari, dove deve essere fermato, inattivato, quindi si ha farmacologia degli antagonisti.

Si distinguono in α e β.

Antagonisti dei recettori α si distinguono in non selettivi e selettivi α1 e α2.

Antagonisti dei recettori β si distinguono anch'essi in selettivi e non selettivi β1 a cui si aggiungono una serie di altre azioni utili o dannose dal punto di vista terapeutico-

RECETTORI α

Sono deputati alla contrazione delle cellule muscolari lisce, perché il **recettore α1**, soprattutto, è invariabilmente legato all'aumento del Ca.

In caso di ipertensione, se vasodilato diminuisco la pressione ma il sistema cardiocircolatorio agisce con i suoi sistemi di controllo compensando e producendo l'effetto opposto e dunque in seguito a vasodilatazione ci si deve aspettare una risposta dai recettori del seno aortico e carotideo e provocare tachicardia.

I **recettori α2** invece hanno questa caratteristica di essere recettori presinaptici o recettori nel SNC che regolano in modo negativo l'efflusso di stimoli al sistema simpatico. Per cui **α2 agonisti** sono utili perché riducono il rilascio di adrenalina, **α2 antagonista** invece non sono utili.

Dato questo schema generale andiamoli a vederli.

NON SELETTIVI

I farmaci non selettivi sono soprattutto **Fenossibenzamina** e **Fentolamina** con uso principale nel **feocromocitoma,** patologia tumorale della midollare del surrene o analoghi, dove il tumore colpisce cellule che producono adrenalina.(feocromocitoma**:***tumore generalmente benigno che origina dalle cellule cromaffini del neuroectoderma, che è parte del sistema simpatico. Le cellule del neuroectoderma vanno incontro a migrazione in diversi distretti corporei come midollare del surrene, glomo carotideo, paragangli, gangli SA dove costituiscono aree di tessuto cromaffine. Questo tessuto ha la capacità di sintetizzare e immagazzinare le catecolamine. Ndr – fonte wikipedia.it -)* Sono tumori dei bambini che ne comportano l'eliminazione chirurgica se non è metastatizzato. Si ha iperproduzione di adrenalina che causa tachicardia, ipertensione e stimolazione, e l'uso di questi farmaci ha un significato terapeutico di blocco dell'eccesso di adrenalina circolante.

SELETTIVI

La **Prazosina** è un antagonista α1 selettivo e che unisce al blocco dell'α1 anche un blocco delle fosfodiesterasi, quindi un vasodilatatore importante. E' usato come accompagnamento ad altre terapie in modo da aggiungere vasodilatazione sufficiente per essere efficace nel ridurre la pressione senza produrre rilevanti effetti di compensazione. Quindi la Praziosina si accompagna all'uso di altri farmaci nell'ipertensione (patologia da approccio multi-farmacologico dove nessun

farmaco è usato al massimo delle sue capacità), nell'insufficienza cardiaca congestizia perché riducendo vasodilatazione riduce il precarico.

Insufficienza cardiaca congestizia: il nostro cuore funziona a seconda delle necessità, ad un aumento di richiesta aumenta la frequenza, la forza di contrazione e infine si dilata in modo da aumentare il volume che getta fuori. In seguito ad attività fisica sostenuta e prolungata il cuore diventa più grosso e le camere aumentano di volume. Questo è un processo del tutto fisiologico.

I segnali sono di vario genere per aumentare l'attività del cuore: diminuzione dell'ossigeno e aumento della CO_2 dal periferico.

Il nostro organismo inoltre ha organi fondamentali, primo fra tutti il rene, e se a questo non arriva abbastanza sangue per filtrarlo partono segnali verso i distretti centrali per aumentare il flusso al suo livello. Avviene dunque un aumento della frequenza e della pressione da parte del cuore.

Il nostro sistema quando sente che il cuore ha bisogno di dilatarsi gli aumenta il volume di sangue circolante, attua ritenzione idrica aumentando il riassorbimento di acqua che fluisce nel sangue aumentando la pressione.

Tutto ciò grazie anche a sistemi endocrini che permettono una fine regolazione che va ad agire dilatando il cuore, poiché esiste un meccanismo detto legge di Starling che dice che più viene stirata la fibra più forte è la contrazione. Quindi aumentando il riassorbimento di acqua aumento la pressione, aumento il precarico, dilato il cuore che si contrae meglio e filtro meglio a livello renale. Con la legge di Starling sappiamo che arriviamo ad un limite massimo oltre il quale il cuore non regge e in seguito all'insieme di fattori che aumentano l'apporto sanguigno, stenta a pompare.

Purtroppo non c'è un segnalatore che da un limite a questo meccanismo di compenso per cui, anche se il cuore diventa insufficiente, il rene continua con la ritenzione idrica. Quest'acqua in più smette di scorrere nei vasi e comincia a depositarsi nelle zone declive (caviglie gonfie, acqua nei polmoni ecc..) causando depositi edematosi.

La situazione finale appare quella di un paziente con un cuore dilatato ma sfiancato, tachicardico, di ritenzione idrica accentuata e problemi da essa derivati. Il termine '**congestizia**' deriva proprio dal congestionamento di acqua.

Una delle cause di questa patologia sono difetti valvolari cardiaci, patologie renali (che nel passato erano componenti di malattie reumatiche). Questa enorme quantità di acqua che inizialmente serve per mettere in piedi una risposta, alla lunga è dannosa e veniva curata tramite salassi che permettevano di togliere volume al sangue, oggi sostituito mediante il cosiddetto 'salasso bianco', cioè l'utilizzo di diuretici per eliminare questi eccessi d'acqua senza togliere sangue.

La **prezosina** con la sua attività anti-α produce una vasodilatazione riducendo il precarico e la dilatazione della camera cardiaca e quindi è utilizzata per ridurre uno dei momenti critici di questa patologia.

La prezosina ha uno stranissimo fenomeno di prima dose come iperfunzione posturale e sincope che compare nella prima ora dopo la prima somministrazione.

Sono antagonisti anche alcuni **derivati dell’Ergot**, una di quelle muffe che contaminavano i granai e che provocavano patologie ipertensive ma anche psicosi.

Il blocco α1 è anche utile nelle sindromi da **ipertrofia prostatica benigna** per azione di rilassamento sul trigono dell’uretra.

Gli antagonisti α2 hanno quasi solo significato sperimentale in quanto il blocco produce un aumento del simpatico, cosa poco utile dal punto di vista medico.

L’unico uso clinico della **Yohimbina**, degli antagonisti α2 è l’impotenza maschile, anche se la sua efficacia è stata messa in discussione.